

動物実験を用いた慢性的低線量内部被ばくによる突然変異と

発がんの非相関性のメカニズム解明

中島 裕夫（大阪大学・准教授）

大野 みずき（九州大学・助教）

石原 弘（量研機構放医研・専門業務員）

研究要旨

東日本大震災に伴って発生した福島原発事故直後よりクローズアップされ社会問題となった低線量放射線内部被ばくの懸念は究極的には、被ばくによる突然変異と発がんへの影響の存否とその度合いにある。

放射線は、遺伝子突然変異とがんの誘発に有力な因子であると考えられている。さらに、ICRPの放射線防護では、閾値なしの直線的作用仮説¹⁾が採択されていることから、微量の放射線でもこの突然変異を起こすことで致死のがんが誘発されると考えられている。しかし、我々の行った突然変異やがんを起こしやすい *Msh2* 遺伝子改変マウス系統を用いた先行研究²⁾では、誘発突然変異率が同じでも酸化ストレスを誘発する化学物質 (KBrO_3) の飲水投与では発がんするが、セシウム 137 放射線の慢性的低線量内部被ばくでは発がんが認められないことを観察している。

本研究では、先行研究で示唆された放射線の低線量内部被ばくでは、化学物質の作用とは異なり必ずしも突然変異と発がんが相関していないことを、より詳細な解析によって定量的に再確認するとともに、線量依存性、生理的反応性、免疫反応性を指標にしてマウスを用いた実験を行い、この突然変異と発がんが相関していない現象のメカニズムを解明する。そして、どの程度の内部被ばくまでは発がんの心配をしなくて良いのか等の判断材料を実験結果として提示して、これまでの我々の研究成果や多くの疫学研究によって示されている結果と合わせて総合的に評価することが目的である。

キーワード：低線量放射線、セシウム 137、内部被ばく、突然変異、発がん、福島原発事故

研究協力者

續 輝久（福岡歯科大学・客員教授、九州大学・学術研究員）、遠藤 暁（広島大学大学院・教授）、宇野 賀津子（公益財団法人ルイ・パストゥール医学研究センター・研究員）、中島 裕美子（九州大学・教授）、福津 久美子（量研機構放医研・主幹研究員）、中津 可道（九州大学・准教授）、武田 志乃（量研機構放医研・上席研究員）、上原 昭典（量研機構放医研・主任研究員）、田中 泉（量研機構放医研・研究員）、葉丸 晴子（量研機構放医研・研究員）、

山口 喜朗（大阪大学・技術専門員）

I. 研究目的

福島原発事故による低線量被ばくが人々の遺伝子や発がんへの影響の不安を招く要因のひとつになっている。これまでの我々のマウスを用いた研究では、20 世代以上にわたりセシウム 137 (^{137}Cs) 水 (100Bq/ml) を摂取し続けて慢性的低線量被ばく (マウス体内で 80~160Bq/g 体重、ヒトでは 100,000Bq/kg 体重で 400 年の世代交代に相当) した A/J マウス子孫において、同一祖先由来の同世代対照群に比べて有意な塩基配列変異が認められなかったこと、ウレタン誘発肺腫瘍の発がん率は ^{137}Cs 投与群と対照群で有意差は認められなかったが、腫瘍増殖は ^{137}Cs 投与群で線量依存的に抑制されたこと、*Msh2* 遺伝子改変マウス系統を用いた突然変異と発がん性を同時に高感度検出できる系³⁾ では、化学物質で認められる突然変異と発がんの相関性が低線量放射線では認められなかったことから、低線量放射線被ばくではこれまでの常識とされている次世代への影響や突然変異と発がんのメカニズムが異なっている可能性や、発がん作用が化学物質よりマイルドである可能性が示唆されている²⁾。 ^{137}Cs は放射性崩壊の過程で、その約 95%が β 線と γ 線を出して、また残りの約 5%が β 線を出してバリウム 137 に変化する。低 LET 放射線である γ 線の生物影響は、水の放射性分解による活性酸素種の生成によるものが約 2/3 と言われているが⁴⁾、酸化ストレスを誘発する化学物質 (KBrO_3) とは異なる酸化 DNA 損傷を誘発するのかもしれない。このことは遺伝子改変マウスに導入したレポーター遺伝子の変異スペクトラムの詳細な解析並びに全ゲノム解析を行うことで、明らかにすることが可能である。どのような変異スペクトラムが発がんに大きく寄与するのかを明らかにすることは低線量影響の中で重要な課題の一つである。

そこで、この現象の原因を解明することで、これまで、放射線と化学物質を同じ変異原として、その突然変異率で評価していた発がんリスクを、変異スペクトラムまでを含めた新たな観点からリスク評価し直すことが本申請研究の目的である。また、この実験系を使うことで、DNA 修復欠損の *Msh2* 遺伝子改変マウスを放射線高感受性の人と想定すれば、低線量内部被ばく影響が自然状態 (DNA 修復能がある野生型) である群では検出限界以下でも高感受性群では検出できる限界点を見つけることが期待できる。この感受性の幅を考慮し、突然変異と発がんの相関性を検討する本研究成果は、これまでのリスク評価にはなかった、ヒトでの放射線感受性の幅を考慮した世界でも初めての影響評価であり、放射線の基準値設定に際して安心の根拠として役立てられるのではないかと考えている。

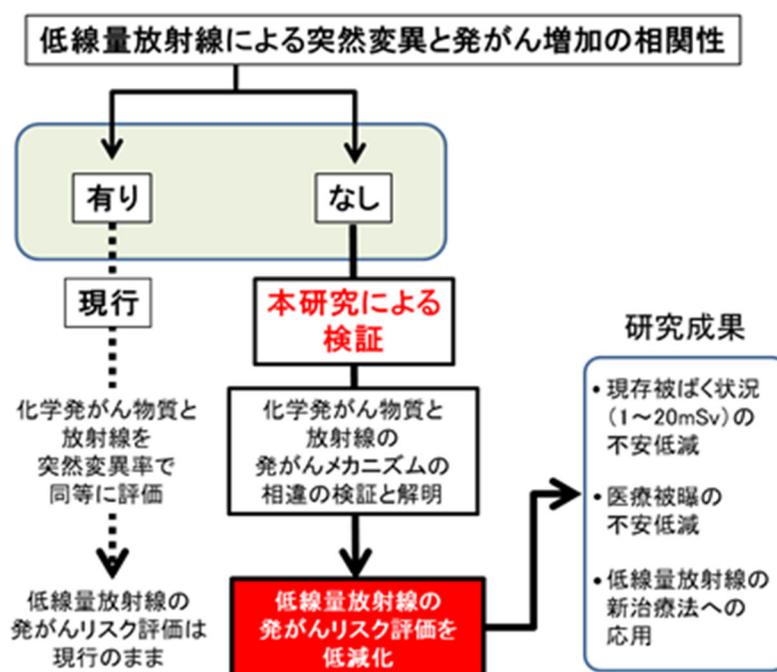
さらに、本研究で見出される放射線誘発による特異的な免疫反応や臓器の発現遺伝子の同定には、微量放射線による健康影響リスク評価のための根拠解明のみならず、被ばく線量の推定、さらには福島などでの環境からの低線量被ばくを利用した新たな疾病治療への応用の可能性も秘められている。

研究期間内に ^{137}Cs に対する低線量・低線量率内部被ばく影響を、酸化ストレス誘発消化管がんを高感度に検出できる DNA 修復系を欠損した *Msh2* 遺伝子改変マウス系統を用いて、被ばく世代における体細胞突然変異と消化管発がんの相関性並びに線量依存性を調べる(平成 31 年度~令

和 2 年度)。マウスの諸臓器における低線量被ばくに特異的な遺伝子の発現量の違い、免疫反応（サイトカイン量）のちがいを測定し、化学物質と放射線に対する生体反応の差異を定量的に調べる（令和 2 年度～令和 3 年度）。また、高感受性マウス系での継世代影響について全ゲノム解析法により変異スペクトラムについても調べ、既に結果が出ている修復系が正常である野生型の A/J や B6 マウス系と塩基変異率にどのような違いがあるかを比較する（令和 3 年度）。

加えて、本研究で得られた結果を踏まえて、内部被ばく線量と同等の外部照射実験を行い、生体影響が同じであるか、あるいは、内部被ばくの特異性があるかを検討する比較実験を行う（令和 2 年度～3 年度）

図I-1
成果の概要図



II. 研究方法

【令和 2 年度の計画】

大阪大学、九州大学、放医研それぞれの機関における施設の条件、これまでに確立している技術の特徴を生かして連携を密にして最も効率よく速やかに研究が遂行できる体制を取り、¹³⁷Cs に対する低線量内部被ばくによる突然変異と発がんの非相関性について、また、そのメカニズムの解明に向けた研究を以下の方法で行った。

大阪大学には ¹³⁷Cs による内部被ばくと外部被ばくの動物実験を実施できる、国内でも数少ない施設を有しているので、その施設を利用して本課題の目的に沿った低線量・低線量率放射線をマウスに曝露させた。

マウス飼養については、大阪大学放射線科学基盤機構附属ラジオアイソトープ総合センター、医学系研究科附属未来医療イメージングセンターのマウス飼育室にて、室温 25°C (±1 °C)、照明 14 時間明、10 時間暗 (4:00～18:00 点灯、18:00～4:00 消灯) の条件下で、ガンマ線滅菌 CRF-1 飼料（オリエンタル酵母）にて、実験条件に即したマウスを選び出し、内部被ばくマウス、外部

被ばくマウスとして実験目的ごとのスケジュールで飼育した。その後に、血漿や臓器（肺、肝臓、腎臓、小腸、筋肉、脾臓、心臓、脳）、筋肉組織を剥出し、試料として解析用途ごとに適切な方法で調製・凍結保存した。

低線量被ばくと化学物質による突然変異と発がんの相関性の相違には、曝露後の適応応答による遺伝子発現や免疫能に差が生じている可能性が考えられた。そこで、曝露後の遺伝子発現量と免疫能の定量を行うためにマウスに対して内部被ばく、外部被ばく実験を行った。

II-1. 実験用マウス系統の選定と準備

低線量被ばく影響の主な要因を酸化ストレスと想定して、酸化ストレスに高感受性を示し、酸化剤（ KBrO_3 ）によって消化管がんを高発する、DNA のミスマッチ修復ができない *Msh2* 遺伝子をホモ欠損させた遺伝子改変マウスを用いることとした。変異検出用遺伝子（レポーター遺伝子）を導入した *Msh2* 遺伝子ホモ欠損マウス（*Msh2*^{-/-}・*rpsL*-Tg⁺）と野生型（*Msh2*^{+/+}・*rpsL*-Tg⁺）、およびそのコントロールとしてレポーター遺伝子を保持しない *Msh2* 遺伝子ホモ欠損マウス（*Msh2*^{-/-}・*rpsL*-Tg⁻）と野生型（*Msh2*^{+/+}・*rpsL*-Tg⁻）をそれぞれ九州大学で作成、繁殖させ、曝露実験を行う大阪大学へ輸送した（大野）。

II-2. 内部被ばく実験

九州大学で準備された 3 週齢の *Msh2* 遺伝子改変マウスを大阪大学へ輸送し、1 週間の検疫飼育の後、内部被ばく実験を以下の条件で行った（中島）。

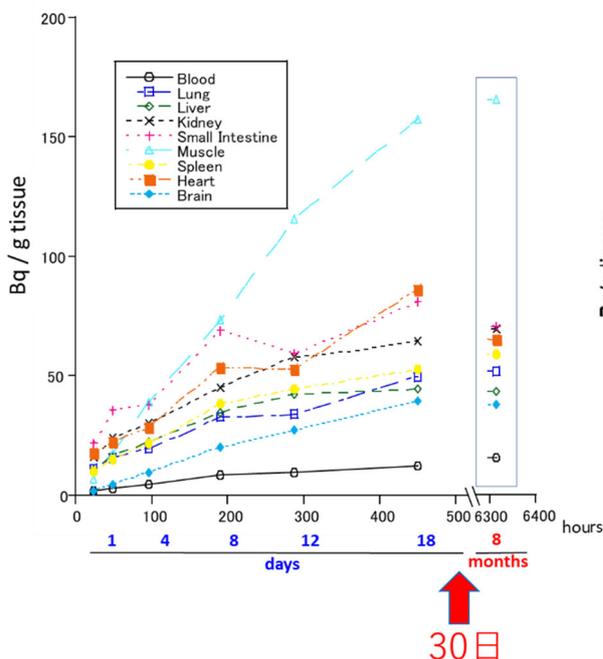
実験開始初日に経口投与用チューブ（胃ゾンデ）にて ^{137}Cs 水原液（ $^{137}\text{CsCl}$ 、4MBq/10ml 水：日本アイソトープ協会）を 4 週齢もしくは 8 週齢の *Msh2* 遺伝子改変マウスに体重 1g 当たり 0.01ml（4,000Bq/g 体重）の経口投与を行い、その後、2,500Bq/ml の ^{137}Cs 水（4MBq/10ml 水を滅菌水にて 160 倍希釈）を給水瓶にて飲料水として 4 週間（体細胞突然変異解析、免疫能解析、遺伝子発現量解析）、もしくは 16 週間（消化管発がん解析）の期間で自由摂取をさせた。

この初期処置は、ある濃度の ^{137}Cs 水を自由摂取した場合、筋肉内の ^{137}Cs 濃度が 4 週間で摂取濃度のおおよそ 1.6 倍で平衡状態となること（図II-1）、また、単回投与による筋肉内の ^{137}Cs 濃度の 4 週間の減衰状況（図II-2）の結果に基づき、 ^{137}Cs 水の給水開始日に、 ^{137}Cs 体内濃度がほぼ平衡状態の時と同じレベルになり、4 週間もしくは、16 週間の ^{137}Cs 水投与期間中の体内濃度を一定にするために行った。

図II-1 は、マウスに飲料水として ^{137}Cs 水の自由摂取を開始してから 8 か月目までの各組織（凡例上から血液、肺、肝臓、腎臓、小腸、筋肉、脾臓、心臓、脳）内の ^{137}Cs 蓄積量（Bq/g 組織）の変化を示しており、毎日の飲水によって一定量の ^{137}Cs が摂取されるにもかかわらず、体内蓄積量は永久に増え続けるのではなく、おおよそ 3 週から 1 か月で水平状態となり、8 か月まで平衡状態が維持される。また、 ^{137}Cs 水の給水を停止して、純水に変えた場合には、図II-2 のごとく、筋肉以外の組織（凡例 2 段目から肺、心臓、腎臓、肝臓）では、ほぼ 10 日で、筋肉（凡例最上段）においても、おおよそ 1 か月で減衰し、組織内の殆どの ^{137}Cs が体外へ排泄されることが分かっている^{5, 6)}。

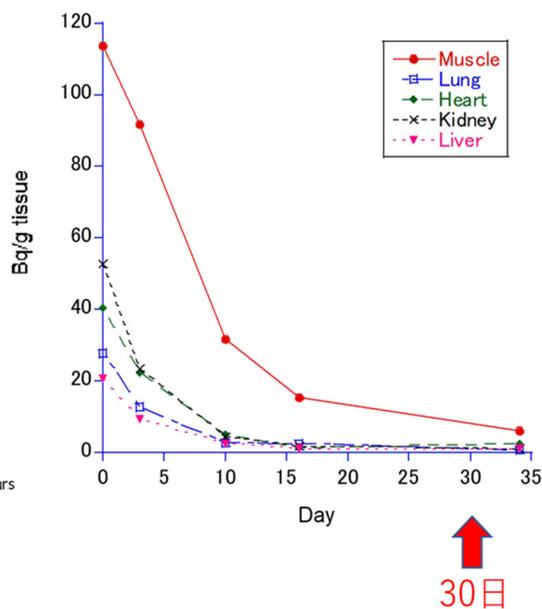
図II-1

^{137}Cs 水(100q/ml)自由摂取による
臓器組織内 ^{137}Cs 蓄積量



図II-2

^{137}Cs 水(100q/ml)自由摂取による平衡状態から
純水飲水開始後の組織内 ^{137}Cs 量経時的变化



4週間もしくは、16週間の ^{137}Cs 水給水の後、給水の水を純水に変えて2週の安定化（レポーター遺伝子の放射線や化学物質の刺激に対する変異ノイズを下げるための処置）を行った（図II-3、図II-4）。その後マウスを安楽死させ、血漿を含む主要臓器組織（脳、心臓、肺、腸管、膵臓、脾臓、腎臓、精巣、精巣上部、卵巣、子宮、筋肉）を剥出して凍結、ホルマリン固定等の処置を行った。

なお、化学発がん物質である KBrO_3 （0.15%水溶液）のマウスへの自由摂取による飲水投与は、九大で行われた（大野）。

図II-3、
クリーン恒温飼育装置



図II-4
クリーン恒温飼育装置内部



II-3. 内部被ばく線量の推定

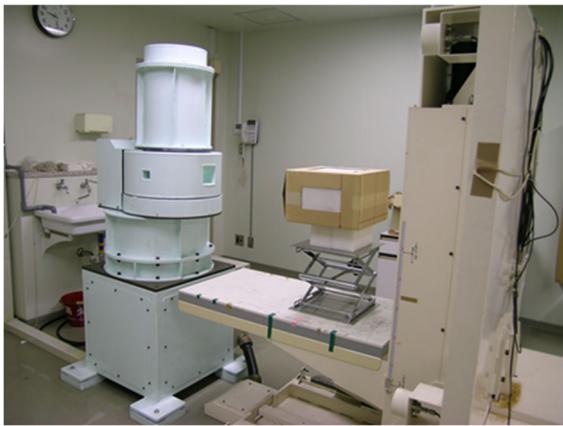
^{137}Cs 水 (2,500Bq/ml) を飲み続けて ^{137}Cs 量がマウス体内で平衡状態になった時の ^{137}Cs 臓器濃度 (Bq/g) をもとに、PHITS コードを用いて、内部被ばく線量率を求めた (遠藤)。

II-4. 外部被ばく実験

^{137}Cs による内部被ばくと外部被ばく影響の同等性、差異を検討するために内部被ばくと同様の条件で、産業科学株式会社製ガンマ線照射装置 (^{137}Cs 線源、2017.12.1 現在 53.45GBq) にて *Msh2* 遺伝子改変マウスへの ^{137}Cs ガンマ線外部照射実験を行った (図II- 5、 図II- 6)。

図II- 5

^{137}Cs ガンマ線照射装置



図II- 6

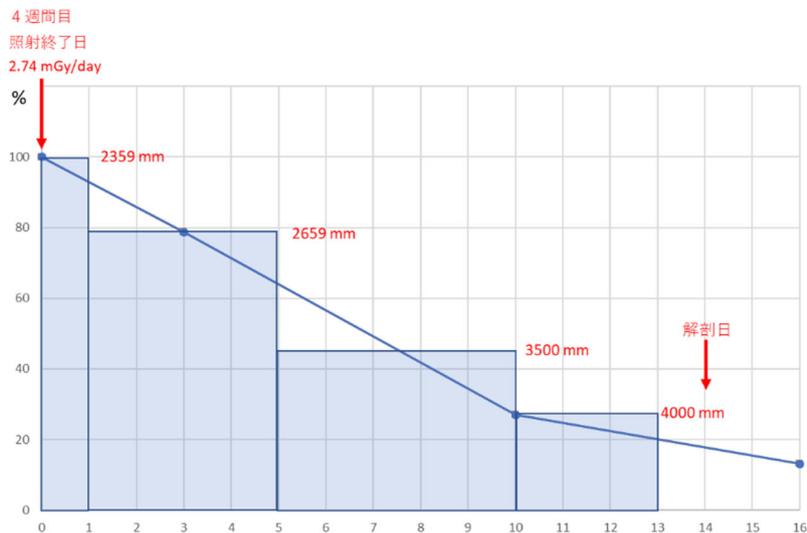
ガンマ線照射時のマウス飼育ケージ



マウスへの外部照射条件は、内部被ばく実験で推定された線量率 2.74 mGy/日になるように ^{137}Cs ガンマ線源から 2,359 mm の距離にマウスケージを設置して、4 週間の総線量 76.72 mGy を照射した。その後、2,659 mm (1 日後～5 日後)、3,500 mm (5 日後～10 日後)、4,000 mm (10 日後～13 日後) と、順次マウスケージを線源から遠ざけて照射を続けた。これは、 ^{137}Cs 水投与終了後から 2 週間の純水給水期間における体内 ^{137}Cs 量の減衰中の内部被ばく分を照射するために行った (図 II-7)。

図II-7 ^{137}Cs 体内残存率 (%) をもとにした減衰照射プラン照射線量 (枠内)

線源からの距離 (mm)、 ^{137}Cs 水摂取停止後の経時的マウス体内 ^{137}Cs の減衰 (青実線)



照射終了後にマウスを安楽死させ、内部被ばく実験時と同様に試料採取を行い、凍結、ホルマリン固定等の処理を行った。すべての試料を採取した後、まとめて、体細胞突然変異解析、免疫能解析、遺伝子発現量解析を行った。

II-5. 体細胞突然変異解析

前年度とII-2 で得られた *Msh2* 遺伝子改変マウスと野生型マウスへの 4 週間の ^{137}Cs 投与（中島）による低線量内部被ばく群、ならびに消化管発がんを発生させる用量の KBrO_3 曝露群での体細胞突然変異の検出を試みて、同等の体細胞突然変異率を示す線量と用量を調べた。（大野）。（詳細については、研究分担者大野による報告書に記載）

II-6. 免疫能解析

前年度ならびにII-2 で採取された血漿サンプルを用いて、血中サイトカインを指標とした 23 項目の免疫能（IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12, IL-12-2, IL-13, IL-17, Eotaxin, G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , KC, MCP-1, MIP-1 α , MCP-1 β , RANTES, TNF- α ）の変化を Bio-Plex Pro マウス サイトカイン GI 23-Plex（バイオラッド）にて測定し、放射線の内部被ばくもしくは化学発がん物質曝露後の免疫反応の差異について検討を行った（宇野・中島）。

II-7. 遺伝子発現量解析

Msh2 改変マウスとそれぞれの対照群マウスの消化管（小腸）より mRNA を抽出し、発現遺伝子の消長の解析を試みた（中島）。

II-8. 微細局所レベルの線量評価方法の確立

本課題における ^{137}Cs 水や化学発がん物質（ KBrO_3 ）による影響の用量依存性、放射線と化学物質の量的相関性を評価するためには、微細な局所レベルの線量や用量の評価方法確立が必要である。特に、経口摂取による ^{137}Cs 水や KBrO_3 が直接作用する消化管（小腸）での線量、用量の正確な評価を可能にするために、DNA 損傷比較実験により、未分化細胞に対する過酸化剤と放射線の損傷の量的相関関係解析（石原）、腸管循環セシウム量の測定により経口投与セシウムの消化管移動の経時変化を調べた（石原）（詳細については、研究分担者石原による報告書に記載）。

（倫理面への配慮）

本研究では共同研究するいずれの研究機関においてもヒトの個人情報、サンプル等を研究対象としていない。

本実験の動物実験に関して、大阪大学においては、大阪大学動物実験規程のもと、動物実験委員会の承認を得ている（動物実験計画書：福島原発事故シミュレーションとしての多世代微量放射線内部被ばくによるマウス子孫での遺伝的、生理的影響の検討、承認番号：第 動医 02-005-000 号、有効期限：2025/03/31）（遺伝子組換え実験（動物使用実験）、承認番号：（遺）04165、有効期限 2022/3/31）。なお、放射性同位元素利用施設内での動物飼育については、大阪大学医学系研究科飼養保管施設等設置の承認を受けている（承認番号 飼医 19-01-0 号）。放射性同位元素利用施設内

での実験操作に関しては、大阪大学ラジオアイソトープ総合センター放射線障害予防規定を遵守して行った。

九州大学における遺伝子組換え実験に関しては、「ゲノム安定性維持に関する分子制御機構の生態における機能解析」「DNA 傷害の防止並びに修復に関する分子機構の解明」（承認番号：1-57、有効期限：2024/08/31）で、また動物実験計画に関しては、「DNA 修復機構の破綻による突然変異と発がんの分子遺伝学的研究（A30-147-1） 有効期限：2020/0331）で機関の承認を得ている（2年毎の更新なので期限前に必要な手続きを行う予定である）」で機関の承認を得た。令和 2 年 4 月より新たに 「DNA 修復機構の破綻による突然変異と発がんの分子遺伝学的研究」が承認番号：A20-089-0（有効期限：令和 4 年 3 月 31 日）で承認されている。研究の遂行にあたっては学内規則を遵守すると共に、動物（マウス）については、規定に従った安楽死措置を施す等、動物愛護に配慮して適切に実験を行った。

本研究における動物実験は放射線医学総合研究所の計画承認[受付番号 15-1009-3 および 18-1010 実施期間 2018/3/16～2022/3/31 迄]を受け、実験動物委員会および技術安全部生物研究推進課による指導のもとに行った。遺伝子組換え動物実験として、*Msh2* 遺伝子欠損マウスを令和 2 年度から使用する予定であるが、令和 2 年度に施設の廃止がある予定であり、令和 3 年度から新規代替施設が使用可能になり次第再開手続きを行い、実験開始前に承認を得た。また本研究における外部被ばく・内部被ばく実験に関連する施設等は計画承認を受け[放射線発生装置[承認番号：X-実動-(31-7, 1-6, 2-6)・X-(31-9, 1-8, 2-8)・照-標-(31-1, 1-1, 2-1)・照-C1-(31-1, 1-1, 2-1)・照-低連(31-2, 1-2, 2-2)・照-低- γ (31-4, 1-4, 2-3)、ラジオアイソトープ[承認番号：非-被-(31-1, 1-1, 2-1)・非-E-(31-6, 1-5, 2-5)]、核燃料物質[承認番号：非核-被-(31-5-6, 31-20-21, 2-6-7)]はいずれも半年毎に更新し、技術安全部放射線安全課による確認と指導のもとに実施した。研究実施期間内に、核燃およびラジオアイソトープ使用動物施設の廃止および新設などがあったが、年度ごとに適切に使用許可を得た。本計画における化学物質を使用する実験室は、放射線医学総合研究所技術安全部保安全管理課による確認のもと、承認を受けて実施した。

III. 研究結果

III-1. 内部被ばく実験

4 週齢もしくは 8 週齢の *Msh2* 遺伝子改変マウスならびに野生型マウスへの 4 週間の ^{137}Cs 、 KBrO_3 を投与したマウス匹数を表 III-1 に示す。

この実験は、消化管（小腸）における体細胞突然変異率が ^{137}Cs 投与群と KBrO_3 投与群で同じになる線量、用量を統計学的に耐えうるように定量し、ならびに低線量放射線と化学物質の免疫能への影響解析、遺伝子発現量解析を行うための実験である。

表III-1 4週間の内部被ばく、KBrO₃曝露実験マウス匹数

4週間 暴露実験 ¹³⁷ Cs KBrO ₃	Msh2 遺伝子	性別	総匹数	¹³⁷ Cs 投与群	対照群	KBrO ₃ 投与群
4週齢マウス群	-/-	♂	7	0	1	6
	-/-	♀	11	3	4	4
	+/+	♂	11	3	3	5
	+/+	♀	7	0	3	4
8週齢マウス群	-/-	♂	5	2	0	3
	-/-	♀	5	0	2	3
	+/+	♂	6	1	3	2
	+/+	♀	7	3	2	2

表III-1において、野生型および *Msh2* 遺伝子欠損マウスのオスに4週間の¹³⁷Csの投与を行い、その後2週間の純水を飲ませる期間中において野生型メスと交配し複数の仔を得たので、全ての出生仔の個体、親の尾、心臓などの組織を凍結保存した。今後、*de novo* 生殖細胞変異を調べるためのエクソーム解析を行う予定である。

表III-2に示すのは、4週齢の *Msh2* 遺伝子改変マウスならびに野生型マウスへの16週間の¹³⁷Csを投与したマウス匹数の結果である。この実験は、KBrO₃の体細胞突然変異率と同じ突然変異率を起こす¹³⁷Csの内部被ばく線量による *Msh2* 遺伝子改変マウスの消化管発がん率をKBrO₃群と比較するための実験である。

表III-2 16週間の内部被ばく実験マウス匹数

16週間 内部被ばく実験	Msh2 遺伝子	性別	¹³⁷ Cs 投与群
¹³⁷ Cs水 (2.5kBq/ml)	-/-	♂	6
	-/-	♀	7
	+/+	♂	2
	+/+	♀	6

III-2. 内部被ばく線量の推定

表III-1で¹³⁷Cs水(2500Bq/ml)を飲み続けて¹³⁷Cs量がマウス体内で平衡状態になった時の¹³⁷Cs臓器濃度(Bq/g)をもとに、PHITSコードを用いて、内部被ばく線量率を求めた結果、マウス個体の中心部分に相当する肝臓での被ばく線量率は2.74mGy/日、そして4週間のマウス平均積算線量は76.72mGy、16週間の平均積算線量は306.88mGyと推定された。この線量、線量率をもとに、外部被ばく実験(¹³⁷Csγ線照射実験)の条件を設定した。

III-3. 外部被ばく実験

表III-3に示すのは、4週齢の *Msh2* 遺伝子改変マウスならびに野生型マウスへの¹³⁷Csγ線照射(線量率2.74mGy/日、総線量76.72mGy)した匹数である。この実験は、表III-1の内部被ばく実

験で PHITS コードにより推定された同じ線量率、総線量になるように ^{137}Cs 線源の γ 線を外部から緩照射を行った、体細胞突然変異率を指標にして内部被ばく線量と外部被ばく線量の同等性を評価するための外部照射実験である。

なお、対照群については、表III-1 の対照群のサンプルを表III-3 の対照群のサンプルと同様に用いた。

表III-3 外部被ばく実験マウスの匹数

4週間 外部被ばく実験	Msh2			^{137}Cs 投与群	対照群
	遺伝子	性別	総匹数		
^{137}Cs γ 線 (2.74mGy/day) 総線量 76.72mGy	-/-	♂	3	3	0
	-/-	♀	4	4	0
	+/+	♂	6	5	1
	+/+	♀	7	5	2

III-4. 体細胞突然変異解析

今年度は、各群で統計処理（Wilcoxon 検定）を行えるように解析検体数を増やした。今年度のデータをまとめた消化管（小腸）における体細胞突然変異頻度解析結果を図III-1 に示す。

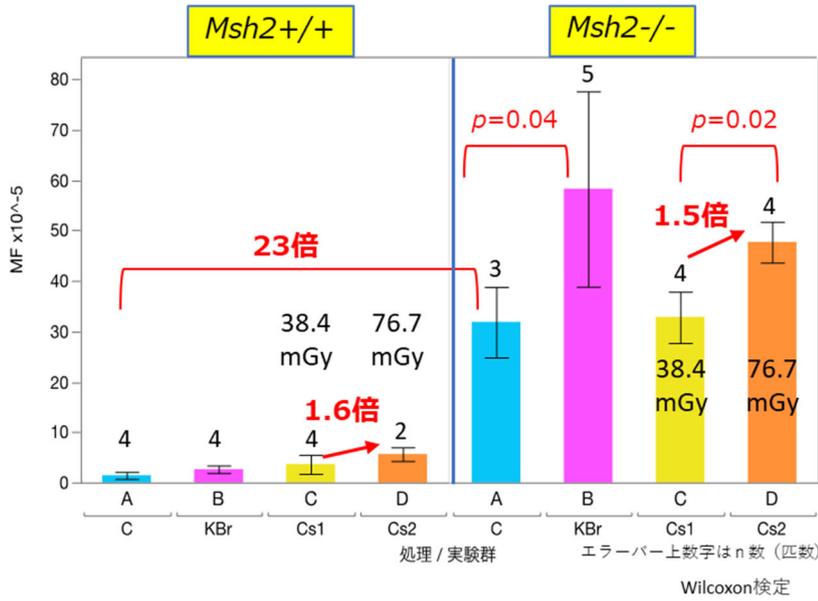
Msh2 遺伝子欠損マウス (*Msh2* -/-) は通常飼育時でも野生型マウス (*Msh2* +/+) の 23 倍高い自然突然変異頻度を示した (A:水色棒グラフ)。

そして、*Msh2* -/-マウス (右図) での KBrO_3 投与 (B:ピンク色棒グラフ) による突然変異頻度は非投与群の *Msh2* -/-マウス (A:水色棒グラフ) に比べて約 2 倍の有意な上昇 ($p=0.04$) が認められた。また、低線量 ^{137}Cs 投与群 (総線量 38.4mGy) (C:黄色棒グラフ) の突然変異頻度は非投与群(A)と差がないが、高線量 ^{137}Cs 投与群 (総線量 76.7mGy) (D:橙色棒グラフ) では、低線量(C)群に比較して約 1.5 倍の有意な上昇が認められた ($p=0.02$)。野生型 *Msh2* +/+マウス (左図の C、D グラフ) でも同様に高線量 ^{137}Cs 投与群での変異率上昇が認められているが、ミスマッチ修復機構が正常に働く野生型マウスでは変異率が非常に低く抑えられて、統計学的有意性を認めることができないことより *Msh2* -/-マウスを使用することで ^{137}Cs の内部被ばくにおいて、線量依存的な突然変異頻度の変化を効率的かつ定量的に検出することが可能であることが示された (図III-1)。

表III-4 に図III-1 で検出された突然変異のスペクトルごとによる突然変異頻度($\times 10^{-5}$)を示す。

Msh2 -/- マウスでの突然変異の特徴は 1~2 塩基の挿入や欠失が変異の大半を占め、特に単一塩基の連続配列の領域で生じていた (表中ピンク色帯)。 *Msh2* +/+マウスでも ^{137}Cs 投与時に欠失の頻度が上昇しているが、これは単一塩基の連続配列の領域ではなかった (表中緑色帯)。このことから ^{137}Cs 内部被ばくにより、*Msh2* -/- マウスでは、挿入や欠失変異の原因となる DNA 損傷が多く認められたが、野生型細胞ではミスマッチ修復因子が働き突然変異率が低く抑えられていると考えられた (詳細については、研究分担者大野による報告書に記載)。

図III-1 突然変異頻度の比較



表III-4 突然変異スペクトルごとによる突然変異頻度(x10⁻⁵)

	Msh2 +/+				Msh2 -/-			
	A	B	C	D	A	B	C	D
	cont.	0.15% KBrO ₃	¹³⁷ Cs-1	¹³⁷ Cs-2	cont.	0.15% KBrO ₃	¹³⁷ Cs-1	¹³⁷ Cs-2
Base Substitutions	G:C→A:T	0.23	0.56	0.23	3.03	2.41	1.19	3.87
	A:T→G:C		0.16		2.43	0.45	1.48	1.19
	G:C→T:A	0.08	0.24	0.23		0.22	0.19	0.30
	G:C→C:G					0.22		0.30
	A:T→T:A	0.08		0.23	0.63	0.11		0.30
	A:T→C:G				0.21	0.67		0.46
Frameshift	1bp deletion	0.39	0.88	0.90	6.47	0.56	1.30	1.79
	1bp deletion (A-run)			0.45		21.07	46.76	23.27
	A塩基が続く配列での1塩基対欠失						0.30	0.64
	1bp insertion		0.08			0.11		
	1bp insertion (A-run)					3.59	4.45	2.39
	A塩基が続く配列での1塩基対挿入							2.39
>2bps indel	0.63	0.72	1.58	2.52	1.79	1.48	1.79	
2塩基対以上の挿入・欠失								
Total	1.41	2.65	3.61	5.66	31.83	58.27	32.82	47.72

III-5. 免疫能解析

表III-3 に血漿中サイトカイン（23項目）を測定した各群のマウス匹数と図III-2のグラフ中のコラム番号を示す。種々の血漿中サイトカイン量を測定した中で、放射線被ばくと化学発がん物質曝露による発がん率が相関しない原因にかかわる可能性の高いサイトカインとして抗腫瘍にかかわる Th1 サイトカイン（IL-2、IL-12、IFN-γ、TNF-α）と炎症にかかわる Th2 サイトカイン（IL-4、IL-5、IL-13）に焦点を当ててまとめたグラフが図III-2である。

表III-5 サイトカイン測定マウス匹数

カラムNO.	1	2	3
実験群	^{137}Cs 群	対照群	KBrO_3 群
4週齢	6	11	19
8週齢	6	7	10

図III-2 4週間の ^{137}Cs もしくは KBrO_3 投与におけるTh1サイトカインとTh2サイトカインの血漿中量の比較



1 : ^{137}Cs 2.5kBq/ml 水投与群
 2 : Control
 3 : KBrO_3 (酸化剤) 0.15%水投与群

図III-2 左側はマウスの4週齢から、右側は8週齢から4週間の ^{137}Cs もしくは KBrO_3 の投与を行った結果である。これらは、週齢のちがいで曝露による影響に異なりが発生しないかを調べるために行ったものである。

Dunnett の検定を使い対照群（カラム番号 2）との比較を行ったところ、¹³⁷Cs 群（カラム番号 1）で KBrO₃ 群（カラム番号 3）では認められない Th1 サイトカインの有意な増加（*）が認められた。一方、週齢のちがいによるサイトカイン増減の傾向には、両群で大きな差はなかった。

抗腫瘍作用（Th1）と炎症作用（Th2）のサイトカインバランスがどちら側に誘導されているかを確認するために、Th1 の主たるサイトカインとして IFN- γ 、Th2 の主たるサイトカインとして、IL-4、IL-5 を選んだ。そして、それぞれのサイトカインで、¹³⁷Cs 群もしくは KBrO₃ 群の対照群に対する増加比（増加倍率）を求めて、それぞれの Th1/Th2 の比を求めた。この比が 1 より大きいとサイトカインバランスは、Th1 側（抗腫瘍作用）に傾いており、1 より小さいと Th2 側（炎症作用）に傾いていることを示す。その結果を表III-6（4 週齢）、表III-7（8 週齢）に示す。

抗腫瘍作用(Th1)と炎症作用(Th2)のバランス

表III-6

	Th1 / Th2	Th1 / Th2
4週齢	IFN- γ / IL-4	IFN- γ / IL-5
¹³⁷ Cs	2.0	5.5
KBrO ₃	0.7	1.3

表III-7

	Th1 / Th2	Th1 / Th2
8週齢	IFN- γ / IL-4	IFN- γ / IL-5
¹³⁷ Cs	1.8	5.8
KBrO ₃	1.2	1.2

この結果から、4 週齢、8 週齢のいずれでも ¹³⁷Cs 群では Th1 > Th2 を示しており、炎症作用よりも顕著な抗腫瘍作用へのサイトカインバランスの傾きが認められた。また、KBrO₃ 群では、サイトカインバランスに大きな偏りは認められていない。

さらに、¹³⁷Cs 群では、TNF- α （腫瘍壊死因子- α ）の有意な増加も認められた。

以上のことから、¹³⁷Cs 群では抗腫瘍免疫が惹起状態であると考えられた。

III-6. 遺伝子発現量解析

放射線被ばくと化学発がん物質曝露による発がん率が相関しない原因を調べるために、また、図III-2 で認められた抗腫瘍作用発現の遺伝子レベルでの動向も同時に調べる予定で、表III-1 の実験で得られたマウス消化管（小腸）の凍結試料を用いて遺伝子発現量の測定を行った。

現在、*Msh2* 遺伝子欠損マウス (*Msh2*^{-/-}) の対照（非投与）群、¹³⁷Cs 群、KBrO₃ 群、野生型マウス (*Msh2*^{+/+}) の対照（非投与）群、¹³⁷Cs 群、KBrO₃ 群、それぞれ 3 匹（合計 18 匹）から得られた遺伝子発現量測定データの解析中である。

III-7. 微細局所レベルの線量評価方法の確立

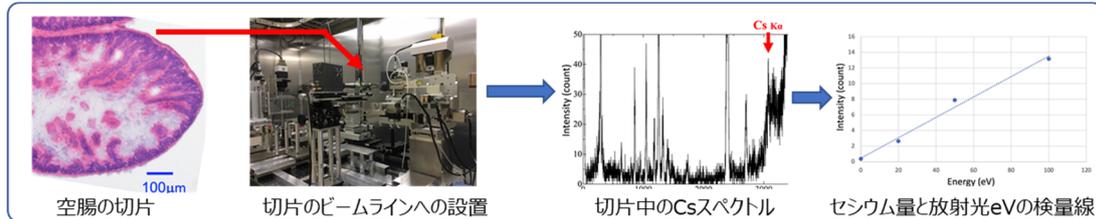
前年度、ライン化血液系細胞を利用して、動物実験に適用可能な定量技術を決定・確立した方法を応用して、マウスから分離した最終分化段階の造血細胞を指標細胞にできるようになった。

この細胞を利用して、DNA 損傷応答性の long non-coding RNAs (Q-PCR 極微量精密定量)、DNA 二本鎖切断量(γ H2ax)を測定して、放射線被ばくと KBrO₃ 曝露の量的影響を比較中である。

また、マウス消化管におけるセシウムの動態解析を精細化するべく、消化管部位ごとのセシウ

ム分布(mm レベル)、小腸組織内セシウムの Spring8 高解像度(mm-sq 内の定量)分析条件の確立を行った（図III-3）。（詳細については、研究分担者石原による報告書に記載）。

図III-3 小腸組織内セシウムの Spring8 高解像度分析



IV. 考察

本研究は、試験管内で行う *in vitro* 実験とは異なり、動物個体を用いた *in vivo* の実験研究であるために、動物の交配、出産、離乳、成長の時間も研究期間内に存在し、動物の営みに委ねられているので、目的の試料採取までに時間が多くかかっている。これまでは、目的達成のためのモデル動物を選定、作製し、必要匹数を確保するために、元マウスを交配し、その仔マウスを得て、そして、必要とする遺伝子を持った実験用マウスを得るために、その仔マウスの遺伝子型を解析した後に、目的にかなうマウス 10 ペア以上の仔マウスを親マウスとして交配し、実験目的を達成するために必要な条件を備えたマウスを得た。その後、実験計画にある、 ^{137}Cs 放射線や化学発がん物質としての KBrO_3 への曝露実験を行った。本年度までは、実験条件を整えて試料を採取することが主となったが、環境省「放射線の健康影響に係る研究調査事業」の理解あるサポートによりほぼ予定通り試料の採取が終了できた。最終年度は、この試料の解析を行い、総合的な結果を導き出せると考えている。

また、これまでに試料採取をしながら、並行して進められた実験解析から一部の結果が本年度までにも得られた。主な結果に対する考察を以下に示す。

IV-1. 化学物質と放射線による突然変異率と発がん率の比較検討

図III-1 に示した、体細胞突然変異解析では、統計に耐えうるマウスの匹数を用いて ^{137}Cs 放射線の内部被ばくと KBrO_3 の化学発がん物質で同じ突然変異率を示す条件（線量、曝露量）が決定できた（図III-1 右図、橙色棒グラフ (D) が ^{137}Cs 群、ピンク色棒グラフ (B) が KBrO_3 群）。

両群ともこの条件で 16 週間の曝露をすることで、同じ突然変異率を起こす条件での消化管がん（小腸）の発生率を比較することが可能となった。

なお、図III-1 結果は、自然突然変異率が高く、放射線や化学物質に対して高感受性を示す *Msh2* μ -マウスでも 1 リットルあたり 2,500,000 Bq の ^{137}Cs 水を 2 週間相当飲み続けた内部被ばく線量 (38.4mGy) では有意な突然変異を検出できなかった（図III-1 右図、黄色棒グラフ (C)）が、同様に 4 週間飲み続けた内部被ばく線量 (76.7mGy) では有意に体細胞突然変異を検出できたこと（図 III-1 右図、橙色棒グラフ (D)）を示している。この結果は、ミスマッチ修復機構が正常に働く野生型マウス（正常な遺伝子修復システム）では、 ^{137}Cs の内部被ばくによる突然変異への影響が、非常

に低く抑えられるために変異の検出が困難であったことに対して、このような線量領域においても高感受性マウスでは、有意に検出できることを示し、また、その放射線高感受性マウスでも検出できない線量領域があることも示していると考えられる。

現在、同条件で 16 週間の投与を行った発がん実験の結果も出始めており、 KBrO_3 群ではマウス当たり 20 個を超える消化管がんフォーカス（病巣）を発症したが、同じ突然変異率を起こす ^{137}Cs の内部被ばく線量の場合には、目視において、顕著に消化管がんフォーカス（病巣）の発症率が低い状況である（現在、統計学的処理に耐えられるように匹数を増やすと同時に病理学的診断による解析を進めている）。このことから、放射線による発がんへの寄与率は、同等の突然変異率を示す化学発がん物質より低いことが示唆されている。

さらに、これまでの研究において 1 kg 当たり 100,000Bq の ^{137}Cs 水を 20 世代以上飲み続けた野生型マウスの全塩基配列解析においてもほとんど影響が認められていないことから、ヒトにおける水の規制値である 1 リットル当たり 10 Bq、食品としての 1kg 当たり 100Bq は、高感受性マウスの検出できない線量よりさらに低い線量であるために、ヒトに対して、特に DNA 修復系の障害がない健康人では、放射線影響を憂慮しなくてもよい線量領域であると考えられる。

IV-2. 免疫能解析

予備実験によって同じ突然変異率を示す低線量放射線、もしくは、化学物質への曝露でも、低線量放射線では化学物質に比べてはるかに低い発がん率を示すことが示唆された。この突然変異と発がんの非相関性が生じるメカニズムとして、曝露後の炎症の差が原因ではないかと考えられた。それは、高線量放射線では、強い作用において曝露部位に細胞死を起こし炎症を生じ、炎症の修復過程で発がん作用が促進されていることが判っているが、低線量、低線量率放射線の場合には、総線量が同じでも細胞死が起こらず炎症作用は少なくなることが分かっており、化学物質に比べて突然変異率が同じでも炎症作用が小さくなることで突然変異と発がんが相関しなくなるのではないかと予想されたからである。そこで、本実験では、同じ突然変異率を示す ^{137}Cs による内部被ばく後、もしくは、 KBrO_3 曝露後の血漿サイトカインの変化量を調べることで、炎症サイトカイン量のちがいを比較した。

その結果、予想に反して Th2 サイトカイン（炎症作用）の有意な差は両群間では認められず、 ^{137}Cs 群において Th1 サイトカイン（抗腫瘍作用）の有意な増加が認められた。 ^{137}Cs 群のマウス体内では、Th1 と Th2 バランスが、Th1 側に傾き抗腫瘍性優位の環境となっていることが分かった。これだけの結果から、突然変異と発がんの非相関性を説明することは早計であるが、この現象は、近年、免疫関与の可能性として話題となっているアブスコパル効果（放射線治療において、腫瘍病巣部への直接照射とは別の非照射部位にある転移腫瘍の同時縮小現象で古くから報告があるが現在でも原因不明）に関係している可能性が考えられた。

そこで、同状況における両群間の特定遺伝子の発現や遺伝子発現量の差を調べるための解析を開始している。

V. 結論

- 1) *Msh2* 遺伝子欠損マウス (*Msh2* ^{-/-}) を用いることで野生型マウスでは検出不可能な低線量放射線影響の定量的高感度検出を可能にする系を確立した。
- 2) *Msh2* ^{-/-}マウスにおいて野生型マウスでは検出限界以下の曝露量で同じ体細胞突然変異率 (53×10^{-5}) を示す ¹³⁷Cs 低線量内部被ばく線量と化学発がん物質 KBrO₃ の曝露量が定量できた。
¹³⁷Cs : 1 リットルあたり 2,500,000 Bq の水の飲水による体内平衡状態量で 4 週間投与 :
線量率 2.74 mGy/日、総線量 76.7mGy
KBrO₃ : 0.15%濃度水溶液を飲料水として 4 週間投与
- 3) 発がん率を調べるために 2) で確定した条件で 16 週間の、マウスへの曝露実験を行った。現在、腫瘍の発生頻度、病理学的解析を行っている。
- 4) 次年度に行う「発がん率解析」、「内部被ばくと外部被ばくの同等性評価」、「DNA 塩基変異スペクトル解析」、「遺伝子発現量解析」、「腸管組織における ¹³⁷Cs のマイクロ線量評価」のための試料の採取を予定通り終了できた。
- 5) 現在、採択されている ¹³⁷Cs の食品中基準値（食品：100q/kg、水：10Bq/kg）は、本研究の高感度 ¹³⁷Cs 低線量内部被ばくによる *in vivo* 体細胞突然変異検出系の検出限界値より、はるかに低いところに設定されていることが示された。

VI. 次年度以降の計画

これまでの進捗状況と令和 3 年度の研究計画

表VI-1 に示す令和 3 年度（2021 年度）達成目標は、酸化ストレス型発がん性化学物質と低線量放射線のゲノム損傷の質・量的相関性の有無、発がん性の評価である。

令和元年に開始した高感受性マウス系統での ¹³⁷Cs 水給水による継代飼育(阪大) で得られた子孫マウスを用いて DNA 塩基配列解析にて変異スペクトラムを調べ(九大)、既に結果が出ている修復系が正常である野生型の A/J や B6 マウス系統と塩基変異にどのような違いがあるかを比較検討する（放射線影響の爪痕を見つける試み）。

また、令和 2 年度に行った高感受性マウス系統への内部被ばく線量相当の外部照射した(阪大) マウス体細胞突然変異解析を行い(九大)、外部被ばくと内部被ばくにおける実効線量の整合性についてマウス *in vivo* 体細胞突然変異率を指標にして検討する（阪大）。

並行して腸管循環セシウムの腸管微細組織内量を定量するためのセミマイクロ解析を行う（放医研）。

総括として低線量放射線被ばくでは、発がん率と突然変異率が相関しないメカニズムを免疫能、放射線または化学物質による誘導発現遺伝子の差異を指標にして検討する。

また、DNA 修復欠損の *Msh2* 遺伝子改変マウスを放射線高感受性のヒトと想定して、低線量内部被ばく影響が自然状態（DNA 修復能がある野生型）の群では検出限界以下でも高感受性群では検出できる限界点を指標にして線量評価を試み、現在の許容線量の妥当性を確認する。そして、

一般社会での合意形成の一助とする。

表VI-1

進捗状況	平成31年度 (2019年度)				令和2年度 (2020年度)				令和3年度 (2021年度)			
	第1四 半期	第2四 半期	第3四 半期	第4四 半期	第1四 半期	第2四 半期	第3四 半期	第4四 半期	第1四 半期	第2四 半期	第3四 半期	第4四 半期
<p>中島裕夫 (大阪大学)</p> <p>セシウム137放射線に被ばくしたマウスにおける特異的発現タンパクと免疫能の解析</p>	Msh2遺伝子改変マウスに4週間のセシウム137投与、サンプルを九大へ輸送				16週間のセシウム137投与 4週間のセシウム137ガンマ線外部照射				内部被ばく条件 (Bq) から、内部被ばく線量 (Gy) への換算を試みて突然変異と発がんの線量評価			
	Msh2遺伝子ホモ欠損マウスでのセシウム137水 (100Bq/ml) 飲水による継世代飼育実験を開始				曝露後の遺伝子発現量と免疫能の定量				低線量影響評価と治療法への応用開拓			
									九大へサンプル送付 まとめ、総括			
<p>大野みずき (九州大学)</p> <p>セシウム137放射線に被ばくした Msh2 遺伝子改変マウスを用いた個体レベルの突然変異の解析</p>	Msh2 遺伝子改変マウス系統を準備、量産し、阪大へ輸送				阪大より輸送されたサンプルの体細胞突然変異の検出				突然変異のスペクトル解析			
					阪大より輸送されたサンプルの体細胞突然変異解析				腫瘍組織より抽出したゲノムDNAを用いて、次世代シーケンサーによる突然変異解析。継世代突然変異の解析			
									まとめ			
<p>石原 弘 (放医研)</p> <p>未分化細胞に対する過酸化物質と放射線の損傷の量的相関関係解析およびセシウム線量推定と発がんの解析</p>	株化細胞を使用して、種々の生体過酸化物質およびβエミッターについて、複数のゲノム損傷の質的な特徴を明らかにする				代表的ゲノム損傷指標の同時分析により質・量的相関を調べる。				空腸粘膜上皮組織におけるゲノム損傷指標の質・量的相関、発がん性を調べる。			
									腸管から腸管膜にかけての吸収線量を推定する。			
									まとめ			

VII. この研究に関する現在までの研究状況、業績

ア) 論文・雑誌等

- 1) なし

イ) 学会発表等

- 1) Nakajima H., Uno K., Yamaguchi Y. *et al.* Low dose-rate internal Cesium-137 radiation exposure may contribute little to carcinogenesis and transgenerational effects. The 6th Asian Congress on Environmental Mutagens (ACEK) and the 48th Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society (JEMS), Nov 18-20, 2019, Tokyo. アジア環境変異原学会第6回大会/日本環境変異原学会第48回大会合同大会（東京）2019.11.18～11.20
- 2) Nakajima H, Uno K, Yamaguchi Y, Todo T, Shinohara A, Carcinogenicity and genome variation in descendant mice after the every generational low dose-rate internal Cesium-137 radiation exposure. 16th International Congress of Radiation Research (ICRR2019), (Manchester) , 2019.8.25～8.29.
- 3) Nakajima H. Carcinogenicity and genome variation in descendant mice after the every generational low dose-rate internal 137Cs radiation exposure. Oral presentation. The 9th Annual Meeting of the

International Society of Radiation Neurobiology (Nagashima), 2019.2.15~2.16 (招待講演)

- 4) Ohno M., Sakumi K., Takano N., *et al.* Toward understanding de novo germline mutations in mammals, 日本放射線影響学会第 62 回大会, 2019.11. 招待講演
- 5) Ohno M., Sakumi K., Takano N., *et al.* Detection of de novo germline mutations in DNA repair-deficient mice lines, The Joint Meeting of The 6th Asian Congress on Environmental Mutagens(ACEM) and the 48th Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society(JEMS), Tokyo. アジア環境変異原学会第 6 回大会/日本環境変異原学会第 48 回大会合同大会（東京）2019.11.18~11.20.

ウ) 書籍・総説

- 1) Nakajima H. Effects of Radioactive Cesium-containing Water on Mice. Low-Dose-Rate Radiation Effects on Animals and Ecosystem -Long-Term Study on the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant Accident (Editors: Manabu Fukumoto), Springer Nature, 2019 ; 221-235, Print book ISBN: 978-981-13-8217-8 / eBook ISBN: 978-981-13-8218-5 (2020 : 電子版)
<https://doi.org/10.1007/978-981-13-8218-5>

エ) 受賞

- 1) なし

オ) 特許

- 1) なし

カ) 環境行政への活用・貢献実績

- 1) なし

VIII. 引用文献

- 1) ICRP (2005) Annals of the ICRP. ICRP Publication 99
- 2) 中島裕夫、大野みずき、石原弘、環境省マウスを用いたセシウム 137 の慢性的低線量内部被ばくによる成体と子孫への影響の定量的実験検証（Quantitative assessment for the effects of chronic low-dose internal Cesium-137 radiation exposure on genomic, carcinogenic and hereditary effects in mice.）環境省 原子力災害影響調査等事業（放射線の健康影響に係る研究調査事業）放射線による健康影響の解明及び放射線以外の要因による健康リスクの低減を含めた総合的な健康リスクに関する研究報告書、2018
- 3) Piao J., Nakatsu Y., Ohno M., *et al.* Mismatch repair deficient mice show susceptibility to oxidative stress-induced intestinal carcinogenesis. *Int J Biol Sci* 2013; 10: 73-79, doi:10.7150/ijbs.5750.
- 4) Hall EJ, Giaccia AJ *Radiobiology for the radiologist*, 8th edn. Wolters Kluwer, USA, Philadelphia 2019; pp10. (9781496335418)

- 5) Nakajima H., Yamaguchi Y., Yoshimura T., *et al.* Fukushima simulation experiment: Assessing the effects of chronic low-dose internal ¹³⁷Cs radiation exposure on litter size, sex ratio, and biokinetics in mice. *J Radiat Res.*, 2015; 56: i29-i35, doi: 10.1093/irr/rrv079, Special Issue – Fukushima
- 6) Nakajima, H. Effects of Radioactive Cesium-containing Water on Mice. *Low-Dose-Rate Radiation Effects on Animals and Ecosystem -Long-Term Study on the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant Accident* (Editors: Manabu Fukumoto), Springer Nature 2019; 221-235, Print book ISBN: 978-981-13-8217-8 / eBook ISBN: 978-981-13-8218-5

Elucidation of the mechanism of non-correlation between mutation and carcinogenesis by chronic low-dose internal exposure using experimental animals

Hiroo Nakajima ¹, Mizuki Ohno ², and Hiroshi Ishihara ³

Institute for Radiation Sciences, Osaka University. Associate Professor ¹

Department of Medical Biophysics and Radiation Biology, Faculty of Medical Sciences, Kyushu University.

Assistant Professor ²

Natl. Inst. Radiological Sciences, Natl. Inst. Quantum and Radiological Science and Technology.

Professional worker ³

Key word: Low-dose radiation, Cesium-137, Internal exposure, Hereditary effects, Carcinogenesis, Fukushima nuclear power plant accident

Abstract

Radiation is considered to be a powerful factor in the induction of gene mutations and cancer. Furthermore, since the Linear Non-Threshold hypothesis has been adopted in the radiation protection of ICRP, it is considered that even a small amount of radiation could induce lethal carcinogenesis. However, our previous studies suggest that low-dose internal radiation exposure does not correlate mutations with carcinogenesis, unlike the action of chemicals.

In this study, we elucidate the mechanism of the phenomenon in which this mutation and carcinogenesis are not correlated, and present as experimental results how much internal exposure does not need to worry about carcinogenesis. In addition, we will attempt a comprehensive evaluation of the research results and the results shown in many epidemiological studies.

This year, we increased the number of experimental mice (*Msh2* ^{-/-} rpsL-Tg +) and (*Msh2* ^{+/+} rpsL-Tg +) for detecting mutation rate and measuring immunocompetence. Then, the exposure experiments to cesium-137 and KBrO₃ were performed, and plasma and various organs were collected from each mice.

As a result, the internal exposure dose of cesium-137 and the exposure concentration of KBrO₃, which show the same mutation rate in the *Msh2* (-/-) mice, were confirmed. In addition, in the cesium-137 administration group under this condition, it was found that the amount of Th1 cytokine (antitumor effect) in plasma was predominant.