

原子力基礎基盤戦略研究イニシアティブ
若手原子力研究プログラム 事後評価総合所見

研究開発課題名：放射線発がんにおける非遺伝子変異的プロセスの解明	
研究代表者（研究機関名）：今岡達彦（独立行政法人放射線医学総合研究所）	
研究期間及び予算額：平成21年度～平成22年度（2年計画） 7百万円	
項目	要 約
1. 研究開発の概要	放射線発がんメカニズム解明を通して放射線安全・放射線防護に資する情報を提供するため、放射線発がんにおけるがん関連遺伝子変異以外のプロセス、すなわち染色体不安定性、エピジェネティックな現象、およびゲノムの非コード領域の関わる機構に関し、実験動物および培養細胞を用いた実験を実施し、最新の基礎的知見を得る。
2. 総合評価	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px 5px; margin-right: 10px;">A</div> <div> <p>・乳腺腫瘍細胞をラットに移植した実験を通して、正常組織では局所的抑制機能によってがん化などへ暴走しないよう制御されており、その制御がDNAのメチル化を含むエピジェネティックな機能発現が関わっていること、さらに電離放射線がその制御をはずしてしまう可能性について個体レベルで実証し、発がん機構並びに放射線の生体影響研究のさらなる進展に寄与するものである。今後、ヒトとの比較が期待される。</p> <p>S) 極めて優れた成果が挙げられている A) 優れた成果が挙げられている B) 一部を除き、相応の成果が挙げられている C) 部分的な成果に留まっている D) 成果がほとんど挙げられていない</p> </div> </div>
3. その他	・本研究で得られたエピジェネティックな作用やDNAメチル化を踏まえて、低レベル被曝や被曝後長期間を経て発症するという放射線発がんの特徴、さらにLNTモデルの是非などを説明できる研究へ進展することを期待する。

<p>1. 目的・目標</p>	<p>放射線安全・放射線防護の実現のため、放射線発がんにおけるエピジェネティックな異常の関与を解明するために必要な、実験動物および培養細胞を用いた実験研究を実施し、放射線発がんメカニズムについての最新の基礎的知見を得ることを目的としている。</p> <p>放射線による発がんの機構のうち、直接的な遺伝的変異の生成を介さない機構（エピジェネティックな機構）が、（従来言われているような培養細胞レベルだけでなく）個体レベルにおいて重要であるかどうかを示す実験的証拠を得るため、従来の知見を総合して「放射線は、正常な組織微小環境が有するエピジェネティックな腫瘍形成抑制能力を阻害することによって、腫瘍形成を促進する」という作業仮説を立て、組織微小環境によるエピジェネティックな腫瘍形成抑制機構の検証と分子機構解明、そして放射線がこの腫瘍形成抑制機構に及ぼす影響を検討する。</p>
<p>2. 研究成果</p>	<p>【研究開発項目 放射線発がんにおけるエピジェネティックな異常の解明】</p> <p>[得られた成果]</p> <p>(1) 移植実験によるエピジェネティックな発がん機構の解明</p> <p>(F344×LEW)F₁ 系統ラットの作出、移植に用いる乳腺腫瘍を供与する個体の用意、(F344×LEW)F₁ 系統ラット（照射及び非照射）の乳腺微小環境への腫瘍細胞の移植（移植細胞数を決定するための予備実験を含む）、移植後のラットの飼育・観察・解剖、移植部位の組織の病理形態観察、分子生物学的解析用の試料の保存を行った。その結果、非照射個体内の正常微小環境中で、腫瘍に由来する細胞から非腫瘍化した組織が発生し、正常微小環境が腫瘍形成をエピジェネティックに抑制する機構の存在が示された。そこで分子生物学的解析用に保存した試料からゲノムDNAを抽出し、DNAメチル化状態を、抗5-メチルシトシン抗体によるクロマチン免疫沈降（ChIP）物のラット CpG アイランドマイクロアレイ解析（下記項目③で決定した実験条件による。）によって比較し、腫瘍形成抑制の際にDNAメチル化が関与することが示された。また、ガンマ線 4Gy 照射された宿主の移植部位からは、非照射群と同程度の頻度で乳腺腫瘍が発生することを観察した。すなわち、正常微小環境によるエピジェネティックな腫瘍形成抑制は放射線によって阻害されなかった。</p> <p>(2) 網羅的メチル化解析法の条件検討</p> <p>培養細胞及びラット組織（乳腺腫瘍、正常乳腺組織）由来 DNA に対して超音波処理（15 秒間）を 25～40 回反復（30 秒間隔）する条件を検討し、断片化 DNA の分子量をゲル電気泳動によって評価した結果、200～</p>

600塩基対のDNA断片が多く得られた35回に超音波処理の回数を決定した。また、研究室に保存されていた腫瘍組織由来ゲノムDNAを用いて、上記の条件で断片化後、免疫沈降によるメチル化DNAの濃縮を行い、非濃縮DNAを対照として、各遺伝子配列を有するDNA断片を定量的PCRにより測定したが、メチル化DNAの濃縮を確認できなかった。その原因としてDNA高次構造による5メチルシトシンのマスキングを疑い、濃縮操作前に熱処理によってDNA高次構造を変性したところ、十分な濃縮率を得た。このように、免疫沈降前にDNA断片を熱処理することが適切であると判断された。これらの培養細胞及びラット組織由来DNAを用いて、網羅的メチル化解析を試行し、メチル化の期待されるCpGアイランドで高い蛍光シグナルを検出することができた。

(1)及び(2)を実施することにより、次のことを明らかにした。

ア) 正常組織微小環境内において、移植された腫瘍細胞からの腫瘍形成が、顕著に抑制されること。

イ) この抑制には、細胞のDNAメチル化状態の変化が伴うこと。

ウ) 放射線は、この腫瘍形成抑制に顕著な影響を及ぼさないこと。

以上により、

①組織微小環境がDNAメチル化状態の変動を伴うエピジェネティックな機構によって腫瘍形成を抑制することを示す証拠を、世界で初めて得た。

②放射線が組織微小環境の腫瘍形成抑制能力を阻害する効果は顕著でなく、個体レベルにおいてこのような機構による腫瘍形成は必ずしも一般的でないという知見を得た。

【論文、特許等】

[受賞]

1) 今岡 達彦、「放射線防護の精緻化に資する影響評価研究及び放射線発がん機序の解明研究」、第4回放射線影響研究奨励賞（財団法人放射線影響協会）、平成22年3月、

[口頭発表]

1) 臺野 和広、今岡 達彦、西村 まゆみ、奥谷 倫未、高畠 賢、島田 義也：「微小環境による乳がん表現型の正常化とその分子機構の解明」平成22年度京都大学原子炉実験所専門研究会、大阪府泉南郡、2010年9月

[ポスター発表]

1) Kazuhiro Daino, Tatsuhiko Imaoka, Daisuke Iizuka, Mayumi Nishimura, Yoshiya Shimada: Epigenetic gene regulation during

	<p>mammary gland morphogenesis. KIDS Workshop 2009 in NIRS: IAEA NIRS Joint Workshop & NIRS Symposium on Radiation Protection for Children. Chiba, Japan. 2009年12月</p> <p>2) 臺野 和広、今岡 達彦、西村 まゆみ、島田 義也: 「微小環境による乳がん表現型の正常化においてエピジェネティックに制御される遺伝子の探索」第69回日本癌学会学術総会、大阪市、2010年9月</p> <p>3) 臺野 和広、今岡 達彦、西村 まゆみ、島田 義也: 「微小環境による乳がん表現型の正常化とその分子機構の解明」平成22年度がん若手研究者ワークショップ、長野県茅野市、2010年9月</p>
--	---