

## 子ども被ばくによる発がんリスクの低減化とその機構に関する研究

受託者 国立大学法人茨城大学  
研究代表者 立花 章 理学部  
再委託先 独立行政法人放射線医学総合研究所、国立大学法人長崎大学、国立大学法人弘前大学  
研究開発期間 平成25年度～27年度

### 1. 研究の背景とねらい

子どもの時期における放射線被ばくは発がんリスクが高いと一般に考えられており、特に東京電力福島原発事故以後、放射線が子どもに及ぼす健康影響、中でも発がんについて心配されるなど、社会的に関心が高いことがらである。子ども被ばくはこのような社会的な面だけでなく、学術面でもきわめて重要な課題であるが、被ばく影響を科学的に評価するための基礎となるデータが不足しているのが現状である。ことに、放射線被ばく後の細胞や組織における生体応答や発がんとの関連は明らかでない。そのため、子ども期の被ばくと生体期の被ばくとで生体影響にどのような違いがあるのか、あるいは無いのかも分かっていない。さらに、子ども被ばく後の発がんリスク低減の可能性についてはほとんど情報が無いのが現状である。

本研究課題では、子ども被ばくのリスク評価に資することを目的として、子どもの時期に被ばくしたマウスの細胞及び組織における種々の生体応答反応を解析して、子ども被ばくによる生物影響の特徴を明らかにすることを目指している。特に、独立行政法人放射線医学総合研究所の研究により、子どもの時期に被ばくしたマウスに対し、成体期に達してからカロリーを制限した餌を与えると、発がん頻度が抑制されることが明らかになった<sup>(1)</sup>。このことは子ども期の被ばくリスクを低減化する方策を考える上で非常に重要な知見であるが、その機構は明らかではない。そこで、本研究課題では子ども被ばくの後、細胞レベルや組織レベルの生体応答を解析して、子ども被ばくによる細胞・組織応答と発がんとの関連を検討するとともに、子ども被ばくにより誘発したがんにおけるゲノムの特徴を解析して、カロリー制限による発がん抑制効果の有効性を検証することを目指している。

具体的には、以下の点について解析を行う。

#### (1) 子ども被ばくを受けたマウスの細胞及び組織レベルの応答解析

放射線被ばくすると細胞では、多くの生体応答の過程を経て、最終的に発がんに至ると考えられている。これら各段階が子ども被ばくと成体期被ばくとで異なるのか否かについて検討し、発がんとの関連を解析する。

#### (2) 子ども被ばく誘発がんのゲノム解析

子ども被ばくによって誘発されたがんのゲノムを成体期被ばくによるがんのゲノムと比較することにより、子ども被ばくに特異的なゲノムや遺伝子発現の特徴を明らかにする。

#### (3) カロリー制限後の細胞・組織応答と突然変異解析

カロリー制限によって、細胞・組織応答、あるいは突然変異や染色体異常などの生体応答を検討し、発がんまでの過程においてカロリー制限によりどのような違いが生じるかを明らかにする。

これらの解析により、カロリー制限による発がん抑制の過程を明らかにして、子ども被ばくのリスク評価と発がん抑制に関する学術的基盤を提供することを目指している。

## 2. これまでの研究成果

### (1) 実験群の設定

子ども被ばくによる細胞・組織応答の解析のため、照射マウスから肝臓、肺、胸腺、脾臓などの臓器を採取するマウス飼育を行っている。特に、生体応答を長期にわたって解析し、発がんとの関連を検討するために、生後 100 日ごとにサンプル採取を行うこととし、600 日までのマウスの長期飼育を開始した (図 1 A)。すでにカロリー制限効果が明らかになっている発がん実験で使ったマウスと同系統の B6C3F1 マウスの雄を用いて、生後 1 週目に 3.8 Gy X線を照射し、その後 7 週目まで通常の餌で飼育する。7 週目に 2 群に分け、一方は 95 kcal/週/マウス、他方の群は 65 kcal/週/マウスの条件で飼育し、8 週目、9 週目、11 週目、15 週目 (105 日目) にサンプルを採取し、その後は 100 日ごとにサンプルを採取することとしている。

一方、被ばく直後の初期生体応答を解析するために、上記と同じ系統のマウスを用いて、生後 1 週目に X線を照射し、その直後から様々な時間経過後にサンプルを採取している (図 1 B)。また、成体期被ばくのサンプルを得るため、生後 7 週目のマウスに X線を照射し、同様の時間経過後にサンプルを採取している。

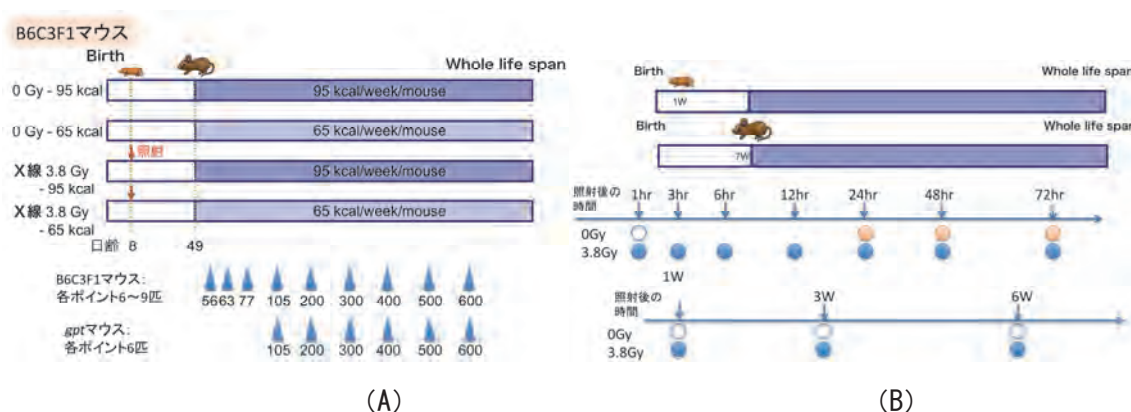


図 1 被ばく後の応答解析のための実験群設定。A：長期飼育、B：短期飼育。

### (2) 細胞・組織応答と突然変異の解析

長期飼育はまだ進行中であるため、現在は短期飼育によって得られたサンプルについて解析を進めているところである。まず、X線照射後の DNA 損傷生成について解析した。放射線によって DNA 二本鎖切断が生じると、損傷部位周辺のヒストン H2AX タンパク質が急速にリン酸化されるため、このリン酸化型 H2AX ( $\gamma$ -H2AX) に対する特異的抗体を用いて DNA 損傷部位を可視化することができる (図 2)。その結果、肝臓や肺では被ばく後 1 時間までに生じた DNA 損傷が、6 時間後には大きく減少するのに対し、脾臓や胸腺では被ばく後 3 日経過し

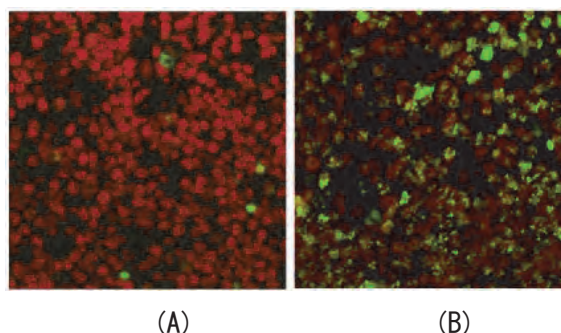


図 2 DNA 損傷マーカー  $\gamma$ -H2AX による損傷反応の検出。A：非照射マウス組織、B：放射線照射マウス組織。放射線照射マウスの組織では、 $\gamma$ -H2AX (緑色蛍光) の顕著なシグナルが認められる。

ても半数近くが残存していることが明らかになり、DNA 損傷修復能力が臓器によって異なることが示された。このことは放射線発がんの臓器特異性に関与している可能性があり、さらに長期の解析が必要であると考えられる。

また、細胞老化を指標とした解析を行ったところ、子ども被ばくである1週齢照射マウスでは、照射後6週間までの短期間では明瞭な変化は認められなかったが、成体期被ばくである7週齢照射マウスでは照射後経時的な細胞老化の上昇が検出された。このことは被ばく時年齢による発がんリスクの違いに関連するかもしれない、さらに検討する必要がある。

放射線被ばくによる突然変異解析のため、マウス個体のすべての臓器における突然変異解析のために国立医薬品食品衛生研究所において開発された *gpt delta* マウスを用いて検討を行っている。このマウスは全身の細胞に人工的に大腸菌の *gpt* 遺伝子を導入し、この遺伝子に突然変異が生じたものを効率よく検出するものである(図3)。他の実験と同様に、B6C3F1系統の *gpt delta* マウスにX線を照射する実験群を設定し(図1A)、照射後採取した肝臓と脾臓での *gpt* 遺伝子に生じる突然変異を解析した。現在はまだ解析の途中であるが、これまでに得られた結果から、*gpt* 遺伝子の一部が失われた欠失突然変異が比較的高頻度に生じていることが明らかになった(表1)。欠失突然変異は放射線によって高頻度に生じるDNA上の変化であることから、これらの突然変異が放射線によって誘発されたものであることを示している。

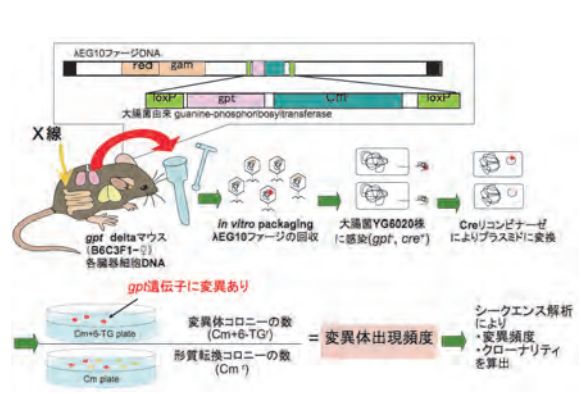


図3 *gpt delta* マウスを用いた突然変異検出方法。この図では *gpt* 遺伝子を用いた突然変異解析方法である *gpt assay* の概要を示す。

(3) 子ども被ばくによる誘発がんのゲノム解析

放射線医学総合研究所で行われた発がん実験により得られその後保存されている胸腺リンパ腫についてDNA解析を行い、腫瘍組織のゲノムに生じた変化を検討している。両親に由来する染色体のうち、片親由来の染色体の一部が失われるヘテロ接合体の消失(LOH)を解析したところ、12番染色体のLOHはカロリーにかかわらず高頻度に観察されたが、4番染色体と11番染色体のLOH頻度はカロリーによる違いが見られた。このことは、4番染色体と11番染色体にカロリーによる違いに関与する遺伝子が存在する可能性が示唆される。一方、染色体解析では、4番染色体、11番染色体、12番染色体に視認できる変化は今のところ認められていない。今後、解析数

Type of mutations	Liver		Spleen	
	95 kcal	65 kcal	95 kcal	65 kcal
G:C→A:T	10	8	5	5
A:T→G:C	4	3	1	0
G:C→C:G	0	0	1	1
G:C→T:A	2	2	3	2
A:T→C:G	1	1	1	0
A:T→T:A	1	1	0	3
1 bp deletion	3	4	4	2
≥2 bp deletion	4	7	3	0
1 bp insertion	1	1	0	1
Others	2	1	0	0

表1 *gpt delta* マウスで見られた突然変異スペクトル。欠失突然変異(1 bp deletion, ≥2 bp deletion)が比較的高頻度に見られることが特徴である。

---

を増やして、より詳細に検討する。

### 3. 今後の研究

上記のように、これまでに照射後短期飼育のサンプルについて解析した結果、いくつかの特徴があることが示唆された。さらに解析サンプル数を増やすことにより、これらの特徴をより確実に明らかにすることが必要である。

さらに、今のところカロリー制限を開始したところであるため、まだカロリー制限の効果を解析するには至っていないが、今後は長期飼育でカロリー制限をしているマウスのサンプルを採取することから、これらのサンプルの解析を行ってカロリー制限の影響を検討することになっている。

### 4. 参考文献

(1) Shang, Y., et al., “Cancer prevention by adult-onset calorie restriction after infant exposure to ionizing radiation in B6C3F1 male mice,” *Int. J. Cancer*, **135**, 1038-1047 (2014)