

部の概要

分子生物学部は、主として(1)遺伝的影響調査、(2)発がん機序調査、および(3)原爆被爆者のがん以外の疾患を調べる調査に関わる基礎研究プログラムを実施している。

遺伝的影響調査では、被爆者の家族(母、父、子)に観察された遺伝的突然変異の頻度および性質について調べている。被爆者の家族に関する以前の調査では、親の放射線被曝による有意な遺伝的影響は示されず、親の被曝影響に関する最近の我々の実験動物を用いた研究は、比較的大きな欠失型や増幅型の突然変異率が1ゲノムあたり $1 \times 10^{-2}/\text{Gy}$ であることを示した。この突然変異誘発率は、マウスのマーカー遺伝子の研究から予測された率を大幅に下回る。親の放射線被曝による影響がマウスよりもヒトの方が低い理由は分かっていない。この問題に正面から取り組むために、被爆者の家族について全ての突然変異スペクトルを検出することが可能な次世代シーケンシング(NGS)技術を用いた全ゲノム配列決定に基づく遺伝的調査を計画しているところである。複雑なタイプの突然変異(大規模な欠失および転座)について評価するため、ロングリード NGS に必要なソフトウェアの改良や新技術の開発が進んでいる。減数分裂や受精および胚発生の過程における変異生殖細胞の運命を調べるために精原幹細胞突然変異を NGS により測定するためのマウスモデルも構築している。

発がん機序の調査は、放射線被曝とがん発生との機序的関係の解明を目標とする。寿命調査において甲状腺がん組織標本を使い以前実施された研究は、若年で高線量に被曝した人たちの甲状腺乳頭がんにおいて、*RET*や*ALK*の遺伝子再配列が高頻度で発生していることを示した。これらの再配列遺伝子が発がんに関わる可能性について、生体内・試験管内実験により評価を進めている。肝臓の炎症および線維化と放射線に関連した肝がんとの関わりの可能性という観点から、放射線被曝に起因する慢性的な炎症が肝臓の代謝異常や線維化を介して肝がんの発生に関与しているかもしれないという仮説を立てた。この仮説を検証するために、肝臓の脂肪症および線維化と放射線に誘発された肝がんとの関わりを調べる動物モデルを構築中である。また、乳がんや甲状腺がんの遺伝的要因を調べている。胎内被爆者のリンパ球染色体転座は線量に依存して増加しないことが以前の調査で示されている。胎仔中の染色体異常を有する組織幹細胞は負の選択を受けるという仮説を検証するために、甲状腺や造血系など種々の臓器および器官系の細胞について、胎生期に放射線照射したマウスにおける染色体損傷の評価を進めている。

また、原爆被爆者の疾患と放射線被曝とを結びつけるバイオマーカーを同定し評価する努力をしている。現在評価しているバイオマーカーは、原爆被爆者のがんを含む慢性疾患リスクの増加に関連すると思われる免疫エンドポイントと肥満指標である。AHS では、造血と免疫細胞のホメオスタシスが放射線被曝により乱されると心血管疾患および肝臓の線維化やがんなどの炎症性疾患の発生につながる可能性があるという仮説を検証することを目的とした縦断調査をデザインしているところである。被爆者の心血管疾患発生に関わると思われる生物学的経路には、クローン性造血、炎症性免疫細胞、内在性危険信号および動脈硬化が関与する。これらの経路を調べる調査を支援するため、放射線被曝後の炎症性表現型および造血幹細胞のクローン性増殖について評価できるマウスモデルおよび数学的シミュレーションモデルも開発中である。

また、放射線に関連した疾患の生物学的機序の理解を深めるため、ゲノミクス、トランスクリプトミ

クス、メタボロミクス、プロテオミクスなど、複数の分子(オミック)エンドポイントの統合解析を実施するために外部専門家との共同研究も計画中である。血中 T 細胞の染色体異常頻度および歯エナメル質の電子スピン共鳴(ESR)シグナルの強度に関する生物学的線量推定データは、個人の DS02R1 線量における確率的不確実性および系統的な不確実性に対する情報を提供し、がんリスク推定に際して重要な情報になると期待している。

2018 年度業績

放射線と遺伝影響

- 放射線照射した精原細胞または成熟卵母細胞に由来する F1 マウスにおいて放射線に誘発された小規模のインデル(挿入欠失変異)と複合突然変異が同定された。目的:精原細胞や成熟卵母細胞に対する放射線による遺伝影響を評価するために、マウスを用いた WGS 検査を実施した。方法:4 Gy のガンマ線を照射する前と後の親に生まれた F1 マウスの WGS データを比較した。結果:放射線照射した精原細胞や卵母細胞に由来する F1 マウスでは、小規模インデルの頻度が増加した。さらに、これらのマウスでは 10 bp 以内に多重突然変異が誘発されているようである。そのような複合突然変異の頻度は、成熟卵母細胞の照射後および精原細胞の照射後に生まれたマウスにおいて増加した。結論:放射線は、精原細胞および成熟卵母細胞に遺伝性の小規模インデルを誘発する。また、成熟卵母細胞および精原細胞のガンマ線照射後に複合突然変異も誘発される。これらの結果は、原爆被爆者の家族において WGS 解析を計画する上で有益な情報を提供する。

放射線量推定

- 長崎の原爆被爆者の歯エナメル質の電子スピン共鳴(ESR)線量および細胞遺伝学的線量と DS02R1 線量との比較
目的:かつて長崎の被爆者のがんリスクは広島に被爆者よりも低いと思われた。長崎被爆者の生物学的線量を測定し、当該被爆者の線量の過大推定が原因である可能性について検証した。
対象者および方法:ESR 法および細胞遺伝学的方法を用いて長崎被爆者 24 名の放射線量を推定し、その結果を DS02R1 線量推定値と比較した。
結果:工場労働者 6 名およびその他の被爆者 10 名について ESR 法または細胞遺伝学的方法により推定した線量は DS02R1 線量と十分に一致していたが、工場労働者 1 名の ESR 線量推定値は眼の水晶体(歯の代替臓器)の DS02R1 線量のほぼ半分であった。いくつかの外れ値も観察された。
結論:これまで広島に被爆者に比べ長崎に被爆者のがんリスクが低く見られていたが、今回の結果により、生物学的に推定した歯の線量または細胞遺伝学的線量と比較したところ過大に DS02R1 線量を推定している傾向は見られない。これは、がんリスクにおける都市による差異が最近消失したことと一致する。

放射線とがん

- これまでに原爆被爆者の甲状腺がんにおいて *EML-ALK* 遺伝子融合が検出された。放射線誘発の甲状腺乳頭がんにおける *EML-ALK* 融合遺伝子の役割を調べるため、組み換えマウスモデルを開発した。ウシサイログロブリン遺伝子プロモーターにより *EML4-ALK* の条件的発言を可能とする組み換えマウスでは、おそらく甲状腺におけるプロモーターの活動レベルが低いためドキシサイクリン処理による *EML4-ALK* 融合遺伝子発現の誘導は全く観察されなかった。何とかして *EML4-ALK* 発現の誘導を促進するため、CMV-rtTA(サイトメガロウイルスプロモーターの制御下にある逆テトラサイクリン依存性転写活性化タンパク質)- *EML4-ALK* プラスミド DNA をマウスに導入した。その結果、微弱ではあるが融合遺伝子の有意な発現がドキシサイクリン処理の有無に関わらずマウスの甲状腺組織に観察された。しかし、このマウスは 1 歳を過ぎても甲状腺乳頭がん発生の組織学的特徴は見られなかった。今回の結果により、*EML4-ALK* 融合は甲状腺乳頭がん発生のドライバー突然変異でない可能性が示唆された。
- 日本人の色素性乾皮症 A 群のヘテロ接合体における皮膚がんリスクの増加
目的: DNA 修復遺伝子に突然変異を有する無症候性ヘテロ接合体ではがんリスクが増加するか否かを明らかにするためのモデル系として本調査を計画した。このため、*XPA* 遺伝子の創始者突然変異の日本人保因者の頻度に焦点を当てた。
対象者および方法: この突然変異を検出するため、PCR 増幅 DNA の制限酵素断片長多型 (PCR-RFLP) 法を用いた。健常者と皮膚がん患者の間で突然変異頻度を比較した。
結果: がん罹患していない対照者の血液試料ではヘテロ接合体頻度が 14/1698 (0.8%) であり、皮膚がん患者の場合、基底細胞癌で 12/545 (2.2%、 p 値=0.018)、扁平上皮癌で 4/383 (1.0%) であった。日光を浴びた部位に基底細胞癌を発症した皮膚がん患者では、頻度は 11/440 (2.5%) であった (p 値=0.0097、健常な対照者と比較したオッズ比は 3.08)。
結論: 今回の結果により *XPA* ヘテロ接合体の保因者では皮膚がんリスクが中程度に増加することが示唆され、放射線損傷修復遺伝子のヘテロ接合体のがん感受性について再考する必要がある。

放射線と免疫学的影響

- 若年期に電離放射線被曝を受けた高齢日本人コホートにおけるインフルエンザワクチン応答
目的: 原爆放射線が免疫系の加齢を促進するという仮説を検証するため、若年期の全身放射線被曝が高齢期のインフルエンザの予防接種に対する免疫応答に及ぼす影響について評価した。
方法: 原爆被爆者について実施中の成人健康調査のコホートから、2 度のインフルエンザ流行期 (2011-2012 年、2012-2013 年) にわたる本観察調査に参加してくれる対象者を合計で 292 人選んだ。末梢血試料をワクチン接種前および 3 週間後に収集した。血清中の赤血球凝集抑制 (HAI) 抗体価を測定した。
結果: この他に類を見ない高齢者コホートにおいてインフルエンザワクチン接種により血清 HAI 抗体価が中程度に上昇し、特定の抗原と季節の組み合わせの場合の抗体保有率は 18-48%

であった。対象者の 12%は接種後に 3 つのワクチンすべてに対し抗体を保有した。一般的に男性はひとつ以上の抗原に対し接種後に抗体を保有する傾向が強く、接種時年齢や若年期の放射線被曝に基づくワクチン応答に差はなかった。

結論:若年期の放射線被曝は高齢被曝者の季節性インフルエンザワクチンに対する応答を妨げない。

- 日本の高齢原爆被曝者の末梢循環樹状細胞集団における放射線と加齢に関係した変化
目的:原爆放射線被曝が樹状細胞(DC)の早期老化を誘発したという仮説を検証するため、過去の放射線被曝が DC の数と機能を低下させるか否かについて調べた。
方法:229 人の原爆被曝者について、通常型 DC(cDC)と形質細胞様 DC(pDC)の年齢と放射線量に関連する数的小および機能的な変化を解析した。結果および結論:女性では pDC の細胞数が線量依存的に減少したが、原爆放射線被曝後 65 年を経て、循環 DC の数と機能がほとんどの場合、正常レベルにまで回復しており、被曝者における DC の役割に変化がなかったことが示された。
- 原爆被曝者の血清中鉄と血液細胞内活性酸素種(ROS)に及ぼす年齢と放射線の影響
目的:AHS コホートの原爆被曝者について年齢と放射線被曝が血液細胞内活性酸素種(ROS)レベルに及ぼす影響を調べた。2007 年から 2012 年に健診を受けた広島原爆被曝者 2,789 人を調べた。血液細胞中の ROS(H_2O_2 および $O_2^{\cdot-}$)をそれぞれカルボキシ DCFDA およびヒドロエチジンの蛍光試薬によりフローサイトメーターを用いて測定した。特に、T 細胞サブセット中の ROS レベルは蛍光標識抗体および蛍光試薬を組み合わせ測定した。その結果、リンパ球(特にメモリー $CD8^+$ T 細胞)および顆粒球中の細胞内 $O_2^{\cdot-}$ レベルが年齢と放射線量の増加に伴い増加し、細胞内 $O_2^{\cdot-}$ レベルと年齢との関係は放射線量の増加に伴い強まる傾向があった。以上の結果から、ROS レベル、特に特定の血液細胞内の $O_2^{\cdot-}$ レベルは加齢と放射線被曝の影響を受けることが示唆された。
- 放射線被曝と 50 年にわたる末梢血単核球の経時的変化:原爆被曝者の成人健康調査
目的:放射線被曝が炎症の重要なエフェクターである末梢血骨髓細胞の増加を促進したか否かについて調べた。
対象者および方法:14,000 人の AHS 対象者から 50 年にわたり収集した経時的血液学的データを用いて、白血球サブセットの割合と数および全死因死亡の両方に関する統計モデリングを行った。
結果:放射線被曝および単核球が占める割合と数の間には正の関連性があった。単核球への放射線影響は健診時年齢が 60 歳前より後の方が強かった。単核球数の増加は全死因死亡の高リスクと関連していた。
結論:原爆被曝者における過去の調査により造血幹細胞のクローン性増殖が観察されていることを考慮すると、放射線被曝は加齢関連のクローン性造血を促進し、結果として末梢血単核

球の長期にわたる増加をもたらした可能性がある。

放射線とがん以外の疾患

- 放射線被曝の脳卒中への関与について検証するため、脳卒中易発症性高血圧発症ラットを用いて実験を行った。脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット(SHRSP)に 0.1 Gy の放射線を照射した場合、脳卒中の症状が発生する時期は非照射の対照群よりも有意に早まるが、0.075 Gy 照射の場合は認められなかった。これは、0.075 Gy と 0.1 Gy の間に放射線の線量効果の閾値があることを示唆する。またメタボローム解析では、(胆汁酸の一種である)リトコール酸生合成系を含むいくつかの代謝物質の量が線量と共に変化した。さらに、IL-2 や IL-6 などの種々のサイトカインにも変化が見られた。このようなデータは、循環器疾患に対する放射線の影響について考え得る機序を推測する際に有益である。