

分子生物科学部は、(1)遺伝的影響調査、および(2)発がん機序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）に観察された突然変異の頻度および性質について調べている。超可変ミニサテライトおよびマイクロサテライト遺伝子座、およびゲノム当たり約 1,000-2,500 個の遺伝子座における突然変異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なかった。高密度マイクロアレイ比較ゲノムハイブリダイゼーション（CGH）法による動物を用いた最近の研究は、ゲノム全体における比較的大きな欠失型や増幅型の突然変異を検出し、誘発された欠失の突然変異率が 1 ゲノムあたり $1 \times 10^{-2}/\text{Gy}$ であることを示唆した。現在、この方法は原爆被爆者の子どもにおける継世代影響を推定するために用いられている。突然変異スペクトル全体を検出することが可能な次世代シーケンシング技術を用いた全ゲノム配列決定に基づく遺伝的影響調査も開始している。生殖細胞突然変異の定量的測定用に緑色蛍光タンパク質（GFP）マウスモデルも開発中である。2017 年の 4 月初めに分子遺伝学研究室長に任用される内村研究員に加え、当該プロジェクトを進めるために 1 ないし 2 名の若手研究員を新たに採用する予定である。

発がん機序の調査は、放射線被曝とがん発生との間の機序的関係の解明を目標とする。寿命調査における甲状腺がん、結直腸がん、肺がんの組織試料を用いて発がんに関わる初期分子事象について研究しており、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が分かった。生体内・試験管内実験により、これらの放射線関連がんを観察された遺伝子変化が、発がんに関わる可能性についても評価を進めている。また、乳がん、甲状腺がん、皮膚がんについて遺伝的因子を調べている。さらに、胎仔中の染色体異常を有する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細胞遺伝学的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 対象者から収集され、また今後も収集されるデータを十分に活用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。放射線被曝後に疾患リスクの増加をもたらすエピジェネティックな機序について調べるため、修復不能な放射線誘発 DNA 損傷、DNA メチル化や転写に関する解析を実施中である。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。蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション（FISH）法を用いて安定型染色体異常（転座）頻度を測定したところ、物理線量に対して個々の転座頻度が広範囲に点在していることが示されたが、FISH 法は、もう一つの独立した生物学的線量推定法である歯のエナメル質を用いる電子スピン共鳴（ESR）法に対してはバラつきが幾らか少ないことが示された。このような生物学的線量推定データにより、DS02 線量推定方式で計算された個人の被曝線量における線量の確率的不確実性および系統的な不確実性に関する情報が得られ、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。

2016 年度業績

放射線と遺伝影響

- マウスにおける比較ゲノムハイブリダイゼーション (CGH) 研究の結果、欠失型突然変異の誘発率は1ゲノム当たり $1 \times 10^{-2}/\text{Gy}$ であった。この研究結果から、ゲノム当たりの放射線の継世代影響は、マウスの7遺伝子座について調べられた平均の突然変異誘発率から予想されるよりもはるかに低いことが示唆された (浅川ら、Radiat. Res., 186:568-76, 2016)。欠失部位における結合配列についても特定した。
- 原爆被爆者の子どもおよびその親におけるCGH調査の結果、de novoの欠失5個および重複6個を同定し、それらの欠失5個および重複5個についてはいずれの親に由来するか特定した。結合配列についても同定した。
- ヒト培養細胞クローンを放射線照射して全ゲノムシーケンシング (WGS) をするという WGS の概念実証を行った。さらに、外部の共同研究者の指示に従って同じ試料のアレイ CGH データを比較検討した。
- WGS により、放射線照射した精原細胞由来の F1 マウスにおいて小規模のインデル (挿入欠失変異) が対照群よりも多く同定された。

放射線量推定

- 蛍光 in-situ ハイブリダイゼーション (FISH) 解析の結果、個人の転座頻度が物理線量に対して広く分散していた。これは以前のギムザ染色法を用いた調査でも見られた結果である。
- ESR により測定した線量と細胞遺伝学的線量を同一の試料提供者について比較した結果、これら2つの線量は良好に適合することが判明した。
- 放射線誘発性の修復不能な二重鎖切断 (DSB) を持つ細胞の修復フォーカス複合体に共局在化する新たな蛋白質を同定し、その特性を明らかにした。

放射線とがん

- 放射線関連の甲状腺乳頭がん (PTC) における *EML4-ALK* 融合遺伝子の生物学的役割を明らかにするために、*EML4-ALK* を有するコンディショナル・トランスジェニックマウスを作成し、甲状腺がん形成のためのドキシサイクリン処理実験を開始した。
- レファレンスグループ (非被曝、*IL6R-A/A*) と比較した肺がんと乳がんの相対リスク (RR) が、高線量 ($\geq 700 \text{ mGy}$) かつ *IL6R-A/G* または *IL6R-G/G* であるグループにおいて最も高かった: 肺がんの RR = 2.08 (95% CI: 1.11-3.90) および乳がんの RR = 6.61 (95% CI: 2.03-21.6)。これは、原爆被爆者における放射線に関連した

特定の種類のがんリスクの個人差に *IL6R* 遺伝子型が関与していることを示唆している。

- 胎児期に放射線照射したマウスの甲状腺細胞における染色体異常頻度に関する論文を発表した (濱崎ら、*Radiat Res.* 2016; 186: 360–366)。胎生期の幹細胞の淘汰と入れ替わりに関する仮説について検証する研究を新たに計画し、予備的な実験を開始した。
- *XPA* 創始者突然変異の保因者のスクリーニングにより、非がん対照群 1,698 人において 14 名のヘテロ接合体を、日光に曝された部位に発生した 714 例の扁平上皮がんと基底細胞がんにおいて 14 名のヘテロ接合体を発見した。がんを発症した人たちの *XPA* 突然変異保有頻度は有意に増加していた (フィッシャーの直接確率検定、 $P = 0.02$)。本調査は 2016 年に終了し、論文を作成中である。
- *p53* 遺伝子座における放射線誘発による前進突然変異を *in vivo* で検出するために作製した *p53-GFP* トランスジェニック/ノックインマウスを用いて、放射線発がんに関する調査の実現可能性を調べる調査を開始した。

放射線と免疫学的影響

- インフルエンザワクチンに対する免疫応答の加齢に関連した減弱を過去の放射線被曝が加速するという仮説を検証するため、AHS 対象者 292 名を 2 度のインフルエンザ流行期にわたり調べた。株別のインフルエンザワクチン応答において、性別または加齢による一貫性のある有意な影響は観察されなかった。1 Gy 以上に被曝した対象者では、低い線量の被曝者に比べ 2 つの抗原について抗体陽転率が高く、原爆投下後 65 年以上が経過し、個人のワクチン応答に放射線被曝の悪影響はないことが示唆された。
- Notch シグナル伝達は、*IL-7* と共にヒト造血前駆細胞 (HPC) の NKp44 (NKp44+ILC3) を発現する自然リンパ球への分化を誘発したが、逆に *IL-15* 依存的な NK 産生を抑制することが、セルソーティングによるコロニー形成アッセイを用いて明らかにされた。これは、Notch シグナル伝達がヒト HPC の異なる段階で NKp44+ILC3 と cNK 系列への分岐を決定するための対照的な二つの役割を行うこと示している。229 人の AHS 対象者の循環樹状細胞 (DC) 集団の数値解析と機能解析は、以下の 2 点を示した：1) 女性における形質細胞様樹状細胞 (pDC) 数の線量に依存した減少、2) 古典的樹状細胞 (cDC) の遺伝子発現プロファイルにおいて、年齢およびサイトカイン産生レベルに異なる中央値を持つ二つの階層的クラスター。
- ディープシーケンシングにより、20 年間にわたって凍結保存された所内ボランティアの T 細胞受容体 (TCR) レパートリーの経時的変化のロバストな解析が可能になり、以下が明らかとなった：1) CD8 T 細胞において、TCR レパートリーの多様性が減少し ($P = 0.0008$)、クローン集団の頻度が年齢と共に線形に増加した ($P = 0.0015$)；2) CD4 T 細胞はかなり多様な TCR レパートリーを保持しクロ

ーン性も比較的低かった；3) 一部の主要な T 細胞クローンは 20 年以上にもわたり存続・増殖した。

- 胸腺の機能性や構造について、165 人の原爆被爆者の剖検胸腺組織に関する詳細な形態学的解析を行った結果、非被曝者(< 5 mGy)に比べ低線量(5 – 200 mGy)と中高線量(>200 mGy)の電離放射線に被曝した人たちにおいて、胸腺退縮が亢進することが示された。(伊藤、 *Radiat Res* 印刷中).

放射線とがん以外の疾患

- Reduced representation bisulfite sequencing (RRBS) に基づく全ゲノム DNA メチル化アッセイにより、若年と高齢のボランティアの間で CpG サイトにおけるメチル化レベルに差がある 600 個を超える遺伝子が検出された。RRBS データの遺伝子経路解析および遺伝子オントロジー解析から、IL-2 受容体経路が年齢の影響を受けてメチル化レベルが変化する遺伝子と関連していることが示唆された。
- 易脳卒中発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) における脳卒中様症状は 0.1 Gy 照射の場合でさえ対照群に比べ有意に早く生じた。この結果に基づき、環境省から外部資金を得て、0.05 Gy 照射したラットを用いる研究を開始した。SHR の試料のメタボローム解析により、一部のメタボロームレベルが放射線量と共に変化したこと、および心血管疾患の病因と緊密に関連していることが示された。