

部の概要

分子生物科学部（以下、分生部）は原爆被爆者や被爆者の子どもを対象とした臨床研究や疫学研究で明らかになった放射線の影響に関する機序研究を実施することで、放影研の使命を支えている。これらは、放影研の他の研究部および外部の研究機関と協力する学際的な共同研究である。研究内容は（1）遺伝的影響調査、（2）放射線発がん調査、および（3）放射線被ばく関連のがん以外の疾患の調査である。当部は4つの研究室（分子遺伝学、細胞遺伝学、細胞生物学、免疫学）で構成されている。現在、当部は放影研の戦略計画の実施に向けて大きな転換期にある。これにより今年、細胞遺伝学研究室は細胞ゲノム学研究室に、細胞生物学研究室は分子病理学研究室に改称された。さらに、バイオサンプル研究センター（BRC）の田邊センター長が率いる特別研究グループが細胞ゲノム学研究室に加わった。鶴山研究員が率いる分子病理学研究室では、病理標本を用いた分子イメージング法とがん組織の*in situ*質量分析解析に着手した。この研究は京都大学や島津製作所との共同研究であり、放影研の戦略計画の主要な研究課題である。

（世界中のいくつかの研究室で行われた動物モデル系を用いた研究結果に基づき）原爆放射線被ばくによる遺伝的影響が社会的にも懸念されていたため、放射線被ばくと遺伝的影響との関係は大きな関心事であり、放影研の前身である ABCC が開始した初期の一連の調査に含まれていた。調査は様々な方法で行われ、いずれの調査でも被爆者の子どもに何ら実質的な遺伝的影響がないことが示唆されてきた。このような臨床・疫学調査を引き続き実施する。しかし、これらの調査で用いられたエンドポイントや統計的検出力には限界がある。一方、分生部では、母親、父親、子どものトリオを対象とした全ゲノム配列解析（WGS）研究の準備に力を入れている。これらのトリオでは、両親のどちらか一方（場合によっては両方）が原爆放射線に被ばくしている。これらの研究を補完し、機序を調べるために培養細胞または実験動物のモデル系を用いた研究も行っている。これらの研究は全て、学際的なF1アンブレラプログラムプロジェクトとして、疫学および臨床的コホートにおける被爆者の子どもの研究と関連付けられ、統合されている。トリオ WGS研究計画は最終承認の段階にあり、研究対象者からインフォームド・コンセントを取得する準備が進んでいる。

放射線発がんや免疫学的影響に関わるプロセスの研究も、ABCC の設立後比較的早期に開始されており、戦略計画を進めつつこのような研究を継続している。これらの研究

は当初、旧放射線生物学／分子疫学部で行われていたが、現在は主に分子病理学研究室および免疫学研究室が行っている。

分生部では現在、被爆者やその子どもから得られたFFPE試料などの組織に基づくバイオサンプルおよび保存血液を用いて、最新のイメージング、ゲノミクス、プロテオミクス、免疫学的アプローチにより、分子、細胞、組織レベルで放射線の影響を調べることを目的とし、放射線発がんに関わるプロセスについて検討する新しいプログラムを策定している。さらに、これらの影響をより深く理解し、バイオサンプル研究から生まれた仮説を批判的に検証するために、モデル系も使用する。これらの研究を、放影研全体の分子疫学的アプローチの一環として、放影研のコホート研究から得られたデータと統合する。

分子疫学分野のその他の研究では、遺伝的感受性や遺伝子と環境の相互作用を調べる研究所全体の共同研究や、潜在的なバイオマーカーの研究がある。今年、被爆者の2年毎の健診で得られたWright染色血液塗抹標本を用いて、AHS試料のゲノムワイド関連解析（GWAS）に関する予備的研究に着手した。当部の免疫学研究室は、これらの組織を用いた研究を実施するとともに、心血管疾患発生および放射線関連のクローン造血に重点を置いたがん以外の疾患の発生機序を調べる現在の取り組みを継続する。

これらの重点分野では、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、免疫学的アプローチを用いた統合的解析を行うため、放影研内外の専門家と共同研究を行う。研究資源センターを通じ、これらのデータを疫学および臨床的データと結び付ける。このような統合的アプローチにより、他機関では現在不可能な放射線関連疾患のプロセスに関する新たな洞察が得られるだろう。

2022 年度業績

放射線と遺伝的影響

分生部遺伝学プログラムおよび放影研全体の研究で最も重要な取り組みは、原爆被爆者とその子どもから成るヒトトリオに焦点を当てた全ゲノム配列解析 (WGS) 研究である。この研究は全所的な F1 アンブレラプログラムの主要な部分を占めている。2022年度には、外部の共同研究者と会議を開き、研究計画書を作成し、外部審査を経て承認された。これらの研究は、Stephen Chanock博士 (米国NCI) および理研の中川博士と共同で実施する。変異解析は外部のクラウドサーバーおよびオンプレミスサーバーで行われる。外部の共同研究者はクラウドサーバー上で解析を実施することは可能だが、対象者のゲノム情報保護を担保するためデータをダウンロードすることはできない。また、対象者のゲノムデータ、疫学データ、臨床データの相関解析の実施は放影研所内に限定されるため、個人情報の管理も万全である。このWGS研究における最も重要な課題のひとつは、社会的合意を得ることと倫理的問題に対処することである。この点に関して、我々は昨年ELSI国際ワークショップを開催し、今年はトリオWGS研究に関し被爆者およびその子どもも参加する外部諮問委員会会合を広島および長崎で開催した。研究計画の倫理的手続に委員会の意見を反映させ、IRBで現在審査中の研究計画書に含めた。承認後、できるだけ早く対象者からインフォームド・コンセントを取得し、研究を実施する予定である。内村、佐藤、野田 (分生部)、Sposto (統計部)、CR162の一部、PI ; 内村。

- トリオWGSの実行可能性調査のための準備の一環として、ヒト細胞株を用いて解析系を構築した。これまで我々は、主にマウス実験において、塩基置換やインデルを含むde novo変異を検出するためのWGSデータ解析パイプラインを構築してきた (内村ら2015年、佐藤ら2020年、内村ら2022年など)。ヒトゲノムに関しては、この方法を1つのヒト細胞株 (リンパ芽球系細胞株、GM18943) の解析で評価したのみであった。2022年度には、光武博士 (長崎大学) から共同研究の依頼を受け、他のヒト細胞株を用いた放射線影響解析において我々の方法論を評価した。さらに2022年度には、ナノポアおよびショートリードNGSを用いた構造変異 (SV) 検出のための全ゲノム解析パイプラインを構築し、メチル化塩基コールなどのナノポアシーケンシングデータ解析のためのGPUベースの解析環境を当部の研究室に整備した。共同研究では、hTERT不死化正常ヒト線維芽 (BJ1-hTERT) 細胞由来の細胞クローン合計23個 (1Gy : 5クローン、3Gy : 5クローン、6Gy : 5クローン、ENU処理 : 4クローン、対照 : 4クローン) のWGSデータを解析した。当部の変異検出パイプラインは、BJ1-hTERT細胞を用いた解析においても良好に機能した。

各クローンに蓄積された変異に基づき、クローンの信頼性の高い細胞系譜を再構築できた。その結果、ENU処理を行うとde novo塩基置換が増加し、放射線照射によりde novoインデルが増加することが示された。これらの結果は光武らの論文として発表される予定である。さらに、構造変異を検出するパイプラインの改良に成功し、(CpGメチル化の塩基コールを含む) GPUベースのナノポアシーケンスデータ解析が放影研で実施可能になった。その結果、我々の変異検出パイプラインが安定的なもので、ヒトゲノムの変異解析に非常に有効であることが示された。この研究結果に基づき、我々は被爆者を含むヒトトリオのゲノム解析の実施に関し技術的問題はないと考える。IRBの審査が終わり次第、すぐに開始することができる。クラウドサーバーを利用し理研やNCIの研究者と連携しながら、最新の解析手法で質の高い解析を行う予定である。エピゲノム解析条件(試料調製など)の最適化は、今後の重要な課題の一つである。(内村、佐藤) PI ; 佐藤

- 父親の精原細胞または母親の成熟卵母細胞が放射線照射された後に生まれた F1 マウスにおけるde novo変異の特徴づけ

これまで、放射線照射した親マウスから生まれた子どものde novo生殖細胞変異(主に塩基置換と小規模欠失)について報告した(佐藤ら、2020年)。現在は、de novo SVの解析を実施している。第一段階として、マウス生殖細胞における自然発生de novo SVの発生率や特徴を調べた。2022年度には、SV検出を改善するためのデータ解析パイプラインを構築した。さらに、ロングリードNGSでも検出が困難なde novo変異を検出できるかどうかを調べるため、オプティカルマッピングに基づく変異検出方法についても検証した。ロングリードNGS(Pacbio、Nanopore)、ショートリードNGS(illumina)のWGS、およびオプティカルマッピング(Bionano)を実施し、変異蓄積(MA)マウスの4系統(16年間近親交配を継続し50世代以上経過)を解析した。パイプライン改良の結果、この4系統で77個のSVを同定することができたが、これは昨年のSAC報告時より11個多い。これにはレトロトランスポゾン挿入(LINE、LTR、SINEなど)36個が含まれる。この結果、マウスでは1世代あたり1.34個のSV(LINE転位0.48個を含む)が発生することが判明した。全ゲノムアセンブリを用いた解析により、レトロトランスポゾンの挿入配列の詳細と、本来のレトロトランスポゾン配列とどのように違うかが明らかになった。例えば、LINEレトロトランスポジション過程ではプロモーター領域の繰り返し単位数が減少することがわかった。また、オプティカルマッピングを用いた解析では、一般にショートリード

NGSやロングリードNGSでは検出が困難なミニサテライト領域で生じた変異も検出できることが明らかになった。これらの研究により、最新のシーケンシング技術を用いて、世界で初めてマウスにおける世代別のde novo SVの発生率を推定することに成功した。我々の推定率（C57BL/6J系統でSV1.34個とLINE 転位 0.48個）は、これまでの推定率（ヒトのSV 0.16個、マウスのLINE 転位0.13個）を大きく上回った。哺乳類のde novo生殖細胞変異に関する我々の新しい研究結果は、今後放影研で行われるヒトトリオ研究に役立つに違いない。（内村、佐藤）、PI；佐藤。佐藤、2020a、2020b、2021。要約報告を作成中。

- 今回は特に、de novo変異に関する新しい解析法を開発するための、当部の最新の方法の一つを紹介する。これらの研究は、モザイク変異を指標とした個体発生の系統樹の再構築を目的とするものであった。本研究の目的は、モザイク変異を用いて初期胚形成時の細胞系譜の系統樹を再構築する方法を開発することである。この方法は、放射線生物学をはじめとする生命科学の多くの分野で役立つ。例えば、放影研ではこの方法を「クローン造血プロジェクト（PI、吉田）」で使用する予定である。体組織にモザイク状に存在するde novo変異を、深い（厚い）カバレッジの全ゲノム配列解析で検出する。次に、複数の組織試料におけるそのバリエーション対立遺伝子頻度（VAF）を正確に測定する。最後に、数理モデルとVAFデータを用いて、初期胚形成期の系統樹を再構築する。これにより、系統樹の新しい再構築方法を確立することに成功した（2021年に特許出願公開）。また、フルペーパー（論文）完成に必要な検証実験およびいくつかの追加実験を実施した。2022年には、その結果を学術論文として報告した（内村ら、2022年）。内村研究員の研究室では、このモザイク変異に基づく細胞系譜解析手法に加えて、大規模な構造変異だけでなく小規模な変異（塩基置換やインデル）を検出するパイプラインも確立した。さらに、データ解析パイプラインの処理能力を向上させることに成功し、多くの共同研究を並行して行うことが可能になった。そこで、放影研 研究員と共にゲノム解析（放射線誘発変異に関する研究）を実施し、また外部の研究者（長崎大学の光武教授：培養ヒト細胞を用いた放射線影響のゲノム解析、山梨大学の若山教授：体細胞核移植マウスのゲノム解析、東海大学の権藤教授：低線量放射線被ばくの世代間影響に関するゲノム解析、大阪大学の菅生准教授：脱メチル化異常によるゲノム変異の解析、広島大学の神沼教授：マウスの血液への影響に関するゲノム解析）と共同でゲノム解析を行った。すでに多くの研究で、概ね良好な結果が得られている。上記の各研究は、2023年度に共著論

文として投稿される予定である。(内村ら、Genome Research, 32[5] 945-955, 2022, doi: 10.1101/gr.276363.121)。(PI: 内村、新規RP)

- 培養下のマウス精原細胞における放射線誘発変異の研究

どのようにして放射線被ばくが精原幹細胞の変異を誘発し、その変異が次世代に伝達されるのかに関する機序を理解するため、マウスの精原細胞(以下、GS、生殖幹細胞)の *in vitro* (試験管) 培養に基づく方法に着手した。培養した GS 細胞に X 線を照射し、生き残った細胞のコロニーを回収した。対照(非照射)群、2-Gy 照射 GS 細胞、4-Gy 照射 GS 細胞からそれぞれ 5 クローンについて、aCGH (MacroGen/Agilent 標準法)によりゲノムの構造変化を解析した。ゲノム配列解析全体については、放射線誘発 SNV や小規模インデルおよびマルチサイト変異を検出するために、対照群クローンと X 線照射した GS 細胞クローンでショートリード WGS を実施した。aCGH 解析の結果、放射線照射クローンでは NHEJ が媒介したと思われる 1 つの欠失のみが検出された。WGS では、4Gy 照射したクローンにおいてマルチサイト変異と欠失変異が明らかにそれぞれ 2.5 倍と 4 倍に増加していたが、SNV と挿入はわずかな増加にとどまっていた。興味深いことに、非照射の対照群で検出されたこれらのインデルは主に繰り返し配列に由来するものであったが、放射線関連の変化は主としてユニークな配列に生じており、GS 細胞における放射線が関連する変異誘発に NHEJ が関与することが示唆された。これらの結果を論文にまとめて発表する。大規模な構造変化はほとんど検出されなかったため、CRISPR/Cas9 システムを用いて、大規模な欠失や転座を人工的に作製する計画を立てた。(野田、濱崎、佐藤、内村)。PI: 野田、文部科学省科学研究費補助金 (No.20K12179) による一部助成。

放射線生物学的線量推定

- ヒトに対する原爆放射線の線量依存的影響について評価するために、AHS コホートの原爆被爆者のサブセットについて細胞遺伝学的な生物学的線量測定の研究を数年にわたり実施している。1、2、4 番染色体の安定型転座頻度を検出するために、合計 1,868 人の被爆者(広島で 1,179 人、長崎で 689 人)を 2 色 FISH 法により調べた。FISH データから得られた線量反応では、通常ギムザ染色法を用いた過去の研究で観察されたのと同様に、両市共に個人の転座頻度が広範に散らばっていた。両市間の差は有意なままであったが、大幅に小さくなっていたので、過去の研究で見られた大きな両市間の差は、主として広島と長崎の研究所間の異常検出率の違いによるものと考えられる。また、長崎の工場労働者を解析から除外すると、両市間の差は有意でなくなった。この結果、放射線遮蔽は依然として有意な線量影響修飾因子であることが示唆されたが、性別、都市、喫煙のいずれもバックグ

ラウンド率との有意な関連は認められなかった。我々は今年、当該解析について論文を発表した。Sposto ら、Radiation Res. 印刷中。（児玉、濱崎、Cordova、Cullings）。PI ; 児玉。

放射線とがん

- 疫学調査では、放射線被ばくにより原爆被爆者の肝細胞がん（HCC）の過剰相対リスクが高くなっていることが示されている。また、特定のマウス系統は放射線誘発のHCCに罹患しやすい。in vitro放射線照射実験により細胞における炎症性サイトカインおよび老化関連分子マーカーの発現に放射線照射が直接及ぼす影響について評価するため、週齢1週間のマウスから肝星細胞を分離する新たな方法を確立した。その結果、分離した星状細胞のリアルタイムPCRとELISA解析により、放射線照射後に炎症マーカーCCL5のレベルが線量に依存し上昇したことが示された。2022年に我々はマウスの肝臓を組織学的に解析する実験系を構築した。この実験系を用いて、X線照射1週間後のマウスの肝臓切片において、グリア線維性酸性タンパク質（GFAP）陽性肝星細胞でCCL5の発現亢進を直接的に観察した。今後は新たにRPを作成し、マウスモデル系を用いて、肝脂肪症や肝線維化における炎症性肝星細胞やマクロファージの形態変化について検討する。（多賀、論文作成中）。
- 安定型染色体転座の成立に対する放射線の影響は、胎生期の発生の段階、すなわち幹細胞がすでにニッチ（本来の生育地）に定着しているか否かによって変化するのではないかという仮説を検証するため、胎生期に被ばくしたマウス造血幹細胞の染色体異常頻度に関する予備的研究を実施した。その第一段階として、放射線照射後すぐに胎仔の造血幹細胞（HSC）で相互転座が誘発されるかどうかを検証した。妊娠マウス（E12.5-15.5d）に2GyのX線を照射し、1日後に胎仔の肝臓を採取した。単一細胞由来のコロニーを得るために、単離したHSCを96ウェルのマルチウェルプレート（1細胞/ウェル）に分注した。増殖したコロニーを回収し、転座頻度を特定する目的でmFISH法を用いた核型解析のために細胞を調製した。mFISHの結果、43個の胎仔のクローンのうち9個（21%）に転座が認められた。これまでの研究で、胎内照射後の成体では造血系細胞の転座はほとんど観察されないことが判明していたが、今回の結果により、放射線照射直後には胎仔の造血幹細胞において転座が観察されることが示された。しかし、その頻度は母親の頻度よりも低い傾向にあった。このような転座を持つ異常細胞は照射直後に排除が始まり、成体ではクローン増殖症例を除き、転座を有する細胞がほとんど観察されない状態になると思われる。現在のデータに基づく要約報告書を2022年末に発表した（濱崎ら、Journal of Radiation Research、doi.org/10.1093/jrr/trac078）（濱崎）。PI ; 濱崎。

- 放影研では、被爆後早期にがんを発症した人も含め、成人健康調査の対象者である被爆者約25,000人の血液試料を1958年の健診以降保存している。GWAS研究に当該試料を用いたゲノム解析を行うことで、がん感受性の個人差を特定し、放射線関連がんの発生机序を詳細に解明することが可能となる。AHS対象者全員の血液試料が揃っており、2年毎の健診で行われた血液検査による塗抹標本も大量に保存されている。この方法の実行可能性を判断するためには、微量の血液試料から作製した塗抹標本の利用可能性を調査する必要がある。本研究では、Axiom ジャポニカアレイ NEO (AJAN) と Infinium Japanese スクリーニングアレイ (IISA) について、所内ボランティア6名の血液試料から作製した塗抹標本から抽出したDNA中のSNPを正確に同定する性能を比較した。新鮮血試料から得られたDNA (W-DNA) と、血液試料から調製した塗抹標本から抽出し、QIAGEN REPLI-g DNA増幅キットで増幅したDNA (増幅DNA) を用いて、これら2つのSNPアレイのSNPのコール率と一致率を検討・比較した。その結果、2つのSNPアレイにおけるW-DNAと増幅DNAの平均コール率はそれぞれ99%以上、96%以上であり、一致率は93%以上であったが、IISAは平均一致率99.7%とより信頼性の高い結果を示した。この予備的研究は2022年9月に終了した。その後、新鮮な血液試料と過去に保存された血液試料から抽出したDNAを用いる新規の予備的研究を実施中である。10年前、30年前、50年前に保存された塗抹標本、20年前から保存されているペーパーディスク、30年前に保存されたギムザ染色標本からDNAを抽出した。現在、REPLI-g増幅キットを用いた全ゲノム増幅法を検討中である。

(林、吉田健、大石、吉田稚、加藤、Sposto、徳永、植木、小笹、2022年9月に終了したRP-P、および林、大石、Brenner、加藤、Cologne、吉田稚、濱崎、児玉、徳永、植木、松浦、吉田健、田邊、野田)。PI：林。

- 放射線による変異と発がんに対する酸化ストレス応答による防御作用に関する予備的研究 (RP-P) を実施している。本研究はマウスモデルを用いて、転写因子NRF2 が制御する酸化ストレス応答経路が、放射線による変異に対する防御において果たし得る役割を明らかにすることを目的とする。放射線による変異を防御する因子を同定することは、放射線発がんや放射線リスクの個人差に関する分子機序の解明につながり、健康リスク低減のための防御方法の開発にもつながる可能性がある。ガンマ線や X 線照射の場合、放射線による変異誘発の主要な機序は、イオン化された水分子に由来する活性酸素種 (ROS) が誘発する DNA 損傷と思われる。抗酸化遺伝子のマスター転写活性化因子である NRF2 を活性化すると、急性放射線障害が顕著に抑制されることが報告されている。本研究では、野生型の

対照マウスと、NRF2 ヌル変異マウスおよび NRF2 の内因性阻害因子である Keap1 タンパク質の発現が低下して NRF2 が構成的に活性化しているマウスの 2 つの変異マウス系統を用いて、X 線照射による変異誘発作用について調べた。そこで、マウスの NRF2 活性の変化が X 線照射による変異誘発作用に影響を及ぼすかどうかを明らかにする。2 つの変異マウス系統と野生型のマウスに全身 X 線照射を行い、蛍光活性化セルソーティングにより骨髄から単一造血幹細胞 (HSC) を単離し、クローン増殖を行う。単一造血幹細胞から得られたクローン細胞集団から抽出した DNA 試料の全ゲノム配列決定 (WGS) を実施し、生殖細胞系列の変異を区別するために、マッチさせた尾の配列データを参照として体細胞変異を同定する。これらの解析から、X 線照射による変異誘発作用を明らかにし、NRF2 の欠損または活性化による影響について評価する。これらの解析から、NRF2 が制御する酸化ストレス応答経路が、放射線による変異に対する防御に関与するか否かについて検証できるはずである。これらの目標に向けた第一段階として、野生型マウスの造血幹細胞における自然発生変異と X 線誘発体細胞変異のスペクトルと頻度を明らかにした。一塩基バリエーション (SNV) と小規模インデルが最も一般的なタイプの体細胞変異であり、全身 X 線照射によって最大 2-3 倍に増加した。SNV の塩基置換パターンの解析から、放射線変異誘発における活性酸素種の役割が判明した。自然発生した小規模欠失の大部分はタンデムリピートの減少であり、X 線照射はタンデムリピート以外の小規模欠失 (非反復欠失) を特異的に誘発した。非反復欠失にマイクロホモロジー配列が存在することから、放射線誘発 DNA 損傷には非相同末端結合だけでなく、マイクロホモロジー媒介末端結合修復機序の関与が示唆された。また、マルチサイト変異や構造変異も同定した。自然発生変異率と線形回帰法で推定した 1Gy 当たりの変異率により各変異タイプの放射線特異性を評価したところ、非反復欠失で最も高く、次いでマルチサイト変異と構造変異であった。このように、これらのタイプの体細胞変異は電離放射線の変異シグネチャーであることが明らかになった。これらの結果を説明した論文を発表に向けて投稿した。原爆被爆者から提供された保存血液試料を用いた WGS 解析によりヒトにおける放射線誘発体細胞変異を特徴づけることを目的とする今後の研究に対し、本研究はモデルとなるものである。(田邊、松田、梶村、吉田稚、Sposto、加藤)。PI: 田邊、松田。文部科学省科学研究費補助金第 19K12338 号および 22K12388 号 (田邊) により一部支援。

- 放影研で長期保存されている剖検標本を用いた病理組織学的研究を計画している。このために病理標本作製機器および質量分析計を導入し、ホルマリン固定組織のタンパク質解析プロ

トコルを試行中である。試験的に動物組織標本を作製し、固定条件の影響による組織品質の違いを検出するプロトコルを策定する。経年や放射線被ばく影響による組織中のタンパク質の酸化および分解について評価するため、今年、島津製作所のMALDI-TOF MS 8030を分子病理学研究室に導入した。これらの初期研究では、モデル動物の固定試料でメチレンブリッジの酸化を検出することができた。現在、LC/MS分析計を用いて酸化タンパク質を定量しているところである。酸化が試料の劣化を評価する指標として利用できるかどうかを調べている。質量分析イメージング (MSI) に関する基本技術は島津製作所と共同で開発する予定である。2023年後半に結果をまとめる。従来のスライドガラスから導電性スライドガラスへのケミカルブロッティングによりMSIが促進され、イメージング感度が向上した。放射線被ばくした子宮頸がんHeLa細胞株をモデルとして用い、細胞傷害がMSIで検出可能であることを認めた。ホスファチジルセリンは細胞傷害に関する候補物質の一つであった。(鶴山、伊藤、2023年に新規RPまたは標準作業手順書 (SOP) を作成。)

放射線と免疫学的影響

- 活性酸素種 (ROS) は免疫応答に重要な役割を果たしているが、ROSの過剰産生と蓄積は炎症関連疾患のリスクを高める可能性がある。我々は以前、原爆被爆者において放射線量の増加に伴い特定の血液細胞における活性酸素レベルが上昇し、この上昇は炎症状態の亢進と関連することを見出した。本研究では、2008年から2016年の期間に受診した広島・長崎の原爆被爆者3,963人から2年毎の健診で繰り返し収集した合計10,540個の試料について、加齢と放射線被ばくが細胞内活性酸素レベルとT細胞サブセットの割合に及ぼす影響を調べた。蛍光標識抗体と蛍光試薬 (Carboxy-DCFDAおよびヒドロエチジン) を併用したフローサイトメトリーにより、T細胞サブセットの割合と細胞内ROSレベルを測定した。その結果、ナイーブCD4⁺またはCD8⁺ T細胞の割合は年齢および放射線量とともに減少し、特定のCD8⁺ T細胞サブセットにおける細胞内O₂⁻レベルは年齢および放射線量とともに増加することが判明した。さらに、対象者をナイーブCD4⁺ T細胞の割合に応じて3つのグループに分けたところ、ナイーブCD4⁺ T細胞の割合が低いグループでのみ、特定のCD8⁺ T細胞サブセットの細胞内O₂⁻レベルが年齢および放射線量とともに有意に増加した。以上の結果から、放射線誘発によるナイーブCD4⁺ T細胞プールの縮小が免疫機能の低下につながり、その結果、特定のCD8⁺ T細胞サブセットの細胞内ROSレベルが上昇する可能性が示唆された。(林、加藤ら、RP、2018年に終了)。PI：林、

論文作成中。

放射線とがん以外の疾患

- 放射線被ばくおよび炎症性疾患のリスク増加と関連する可能性があるクローン造血 (CH) は、科学界で大きな関心を集めている。放射線関連の非がん疾患、特にCHプログラムプロジェクトの一部である動脈硬化に関連するCHの評価戦略を策定するため、放射線照射マウスのCHが炎症性表現型に関与し、アテローム性動脈硬化形成を促進するという仮説を検証できる複数のマウスモデルを確立するため、予備実験を実施した。マウスの予備実験では、3Gyの放射線を全身照射したマウスにおけるCHの極めて高い保有率が確保され、各放射線照射マウスのCHには骨髓核細胞集団全体の60-80%を占めるほど増殖した複数のクローンが含まれていた。この結果は高線量放射線がごく少数の幹細胞や前駆細胞から大量の造血細胞を生成・増殖させることを示唆するものである。また、縦断的（経時的）に収集した血液細胞を用いて、放射線照射マウスにおけるCH変異の縦断的軌跡を調べた。放射線照射したマウスの血液では、炎症性骨髓系細胞と赤血球分布幅 (RDW) の両方が増加しており、これはCHを有するヒト集団でしばしば観察される。これらの予備実験の結果は、*Scientific Reports* 誌に掲載された (2022年)。LDLRノックアウトマウスモデルにおけるCHとアテローム性動脈硬化形成を検討するための実行可能性研究について評価するため、我々は3Gyの放射線を照射し、高脂肪食を摂取させたLDLRノックアウトマウスの骨髓、末梢血、大動脈における造血細胞のクローン集団を評価する予備実験を開始した。(吉田、楠ら、CR155)。PI; 吉田。
Scientific Reports 12: 17276 (2022) doi: 10.1038/s41598-022-21621-6
- 放射線関連のT細胞の変化が原爆被爆者におけるがん免疫監視機能の低下、ひいてはがんリスクの上昇に関与しているかどうかを調べるために、我々は700-800人のAHS集団における縦断的データ (1988-2011年) およびベースラインデータ (1992-1995年) を用いて、ナイーブCD4 T (Tn) 細胞を含むリンパ球サブセットの割合と2015年までのがん発生との関連について解析している。しかしながら、最近の報告では、CXCR3を高レベルで発現するTn細胞サブセットが、従来のTn細胞とは異なる作用をすること、すなわち、CXCR3高発現Tn細胞ががん免疫監視機能の低下に関連すると考えられる炎症反応に寄与することが示唆されている。そこで我々は、当該AHS集団における年齢、放射線量、およびTn

細胞中のCXCR3高発現細胞の割合の関係を調べたところ、CXCR3高発現Tn細胞の割合は、年齢および放射線量、ならびに炎症性サイトカインであるCXCL10およびIL-6の血漿レベルとの間に正の相関関係を示すことを認めた（論文作成中）。この結果は、放射線と加齢が、がん免疫監視を阻害する可能性のある炎症を引き起こすTn細胞を増殖させること、およびCXCR3高発現TnサブセットとCXCR3低発現Tnサブセットを、T細胞データに基づくがんリスク評価のために別々に調査すべきであることを示唆している。がん免疫監視機能に関するこの予備的研究から得られる情報は、将来、AHS参加者3,000人を対象とした免疫監視機能に関する本格調査を計画する際に活用する予定である。（吉田、楠ら、論文作成中）。PI; 楠。