

## 使命および具体的な目標

分子生物科学部（以下、分生部）は、原爆被爆者や被爆者の子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を解明し解釈するための、機序研究を実施することで放影研の使命に貢献する。これらの学際的研究は、他の放影研研究部および外部研究機関と共同で実施されている。分生部は、分子遺伝学研究室、細胞ゲノム学研究室、分子病理学研究室、免疫学研究室の4つの専門分野別の研究室から構成されている。また一部の分生部研究員は、部の垣根を越えた共同研究を推進するため、バイオサンプル研究センター（BRC）と兼務である。分生部の主要な目標は、以下の通りである。

- 1) 放射線被ばくに関連した新生物発生および非がん疾患発症の分子機序を解明する。
- 2) 放射線被ばくの潜在的な継代的影響を調べる。

以上の目標を達成するため、現在の分生部の研究プログラムは以下の5つのカテゴリで構成されている：

1. 体細胞および生殖細胞において、マクロレベル（染色体異常）からミクロレベル（DNA配列変化）に至るまで、電離放射線がヒトゲノムに及ぼす変異効果について解析する。
2. 放射線被ばく、被ばく後の回復過程におけるクローン細胞増殖、および疾患発生に関与が考えられる慢性炎症との関連性に焦点を当て、放射線被ばく後の細胞の動態と機能について解析する。
3. 原爆被爆者から提供された血液および病理学的試料を、ゲノミクスやプロテオミクスなどのオミクス手法を用いて解析し、放射線誘発による新生物および非がん疾患発生の分子機序を解明し、放射線被ばくと疾患発生のバイオマーカーを同定する。
4. 放射線感受性やリスクを決定する遺伝的・環境的・生活習慣的因子を特定することにより、放射線被ばくによる新生物および非がん疾患の放射線感受性およびリスクの個人差をもたらす分子基盤を解明する。
5. ボランティアの試料、培養細胞およびマウスモデルを用いて試験管内および生体内モデル実験を実施し、分子機序に関する仮説を検証し研究方法を策定する。

分生部が実施する研究プロジェクトは、原爆被爆者とその子における電離放射線の後影響の分子機序を解明し、過去の放射線被ばくと関連疾患リスクのバイオマーカーを構築するため、優先度が高いものであり、いずれも放影研の使命を推進するものである。分生部は以下のような放影研の戦略目標において中核的な役割を担っている。

**Create（創造）**：分生部は放影研コホートの原爆被爆者およびその子における放射線被ばくの長期的健康影響の機序について知見を得るため、最先端の解析技術を用いて、遺伝、エピジェネティクス、転写、生化学、免疫学の見地から特性を調べている。このような研究として、現在、被ばくした親とその子に対する全ゲノムシーケンシング（WGS）を実施する「トリオゲノム研究」や、被ばく数十年後の被爆者におけるクローン造血のエクソームシーケンシング研究などが挙げられる。

**Collate（照合）**：分生部が生成したバイオサンプルとデータについて、将来の研究利用に向けて照合・整理を行っている。

**Collaborate（共同連携）**：分生部は、以下に述べる通り、放影研の全ての研究部および外部研究者と共同でこれらの研究を実施している。

**Communicate（コミュニケーション）**：原爆被爆者およびその子どものバイオサンプルに

## 分子生物科学部

関する研究は慎重な対応を要するため、研究対象者、被爆者団体、地域社会、マスコミとの継続的なコミュニケーションが不可欠である。この継続的なコミュニケーションが研究を成功させるために極めて重要であることは、いくら強調してもし過ぎることではない。

### 分生部の資源

分生部が収集した原爆被爆者とその子の血液試料は、バイオサンプル研究センター（BRC）に移管され、同センターで一元管理されている。分生部は、原爆被爆者とその子どもの染色体解析、成人健康調査（AHS）対象者の血液試料中のサイトカインなどの循環タンパク質因子の測定やリンパ球サブセット解析など、数十年にわたる膨大なデータを有している。

分生部の主要な設備・機器資源として、オンプレミスサーバーを備え安全性の確保されたヒトゲノム解析室、ゲノムデータ解析用クラウドコンピューティングシステム、動物実験施設、P2（物理的封じ込めレベル2）実験施設、動物用X線照射装置、染色体解析室、蛍光活性化セルソーター（FACS）、病理標本調製室が挙げられる。放影研が広島大学霞キャンパスに移転する予定であるため、動物実験施設を廃止し、広島大学の共同利用施設での研究プログラムに統合する。

### 所内および所外の共同研究

分生部は長年にわたり染色体異常の解析や歯のエナメル質の電子スピン共鳴（ESR）解析に携わり、生物学的線量測定・緊急被ばくネットワーク（WHO REMPANおよびIAEA-HICARE細胞遺伝学プログラム）や国際放射線防護委員会（ICRP）の遺伝影響委員会などを通じ、国際的な生物学的線量測定法の開発に貢献してきた。

最近開発された全ゲノム解析（WGS）技術に分生部独自の高精度な方法を組み合わせて用いることにより、実験動物における継代的影響や体細胞変異について調べる目的で、放影研内だけでなく、環境科学技術研究所（青森）、電力中央研究所（千葉）、広島大学、大阪大学、長崎大学などの外部機関とも共同研究も推進してきた。また、AIを活用した変異検出手法の改善にも取り組んでおり、徳島大学や大阪大学などの専門家との共同研究も実施している。

トリオゲノム研究（RP 3-23）には、放影研の全ての研究部、理化学研究所、東京大学、米国国立がん研究所（NCI）の研究者が参加する。WGSの遺伝学的な二次的所見に関する遺伝カウンセリングおよび臨床ケアについては、広島大学と長崎大学からも支援を受けている。

放射線被ばく、クローン造血、および炎症性疾患の関連性についてエクソームシーケンシングにより調査するクローン造血研究（RP 1-23-1）を、長崎大学、京都大学、東京大学と共同で実施中である。一塩基多型（SNP）アレイ解析の予備研究（RP-P2-22）は、国立国際医療研究センター（NCGM）、広島大学、長崎大学と共同で実施中である。京都大学と共同で、保存病理組織試料を用いて放射線被ばくのバイオマーカーを特定する予備研究を実施している（RPを準備中）。

### 2024年科学諮問委員会の勧告への対応の要約

**勧告：**放影研の実験科学の研究員も原爆被爆者の健康と福祉に貢献することが期待されている。彼らは、いかに彼らの研究が原爆被爆者や人類全体の利益に貢献しているかを示すことが常に求められている。分生部の現在の使命は、原爆被爆者のがん、がん以外の疾患および遺伝的影響の正確なリスク推定や放射線に誘発された疾

## 分子生物科学部

患の機序を裏付ける分子・細胞学的証拠（機序）を提供することである。放影研の他の研究部、特に疫学部、統計部、臨床研究部の研究員との議論や交流は、ヒトを対象とする研究に関する研究課題の優先順位付けに役立ち、分生部にとって大きな利益となる。SACは、疫学部や臨床研究部の研究から生まれた仮説は、他の研究所の研究から示唆されるかもしれない放射線生物学の一般的テーマに焦点を置いた研究よりも、むしろ原爆被爆者のバイオサンプルやデータといった他に類をみない資源および放影研の使命に焦点を当てた分生部の研究の方に斬新なアイデアを提供すると考える。疫学部や統計部および臨床研究部からの助言や批評は、重要かつ価値がある。どのような研究が実施されているのか、そしてどのように研究が各部で進められているのかを整理するために、相互交流（少なくとも関係部間での定期的な結果の共有）を強く勧める。

**対応：**特にヒト集団を対象とする研究に関しては、他部の研究員との議論や交流が重要であることに同意する。これまでも頻繁に他部と連絡を取り合っており、研究デザインなどを議論してきており、トリオ研究に関して定期的なチーム会議を開始した。また分生部は、マウスの実験モデルやヒト細胞株を用いて、疫学・臨床データから生じた仮説の検証も行っている。

**勧告：**SACは、分生部の個々の研究員の業績および発表された全体的に質の高い研究に好印象を受けた。新しいゲノム技術がますます利用できるようになり、これらの新しいアプローチの焦点を原爆被爆者の重要なデータやバイオサンプルに再び向けるには良い時期である。分生部内では、研究提案はまず、仮説が放影研の保存バイオサンプルを使って検証できるかどうかに基づいて評価されるべきである。バイオサンプルが限られている場合やヒトのサンプルに応用可能な解析手法が存在しない場合、マウス実験が有用であるかもしれない。このアプローチを肯定する例が、分生部が実施する実験における照射した親マウスから生まれたマウスのマルチサイト変異の同定である。これら所見は、チョルノービリのトリオ研究の子どものデータのその後の再解析を促進した。ヒトに焦点を置いた調査を拡大・強化するためにマウス研究を用いるというこのアプローチを推奨する。しかし、評価に値する仮説の中には、ヒトとの関連性というよりも実施や実験デザインが容易であるという理由からマウスモデルに焦点を当てたものがあることが懸念される。仮説が最初に検討された時点でヒトを対象とする研究への拡大の手段が考慮されないのであれば、その後の研究は、放影研の使命を達成するには至らないかもしれない。SACは、全てのRPにおいて、明確な論理的根拠や実行可能性およびヒトサンプルへの拡大計画を示すことを勧告する。

**対応：**被爆者のバイオサンプルを用いる研究に役立てることが、動物研究を実施する重要な目的であることに同意する。事実、利用可能なサンプルと放影研が実施すべき研究について優先度を決定する研究プロトコルを策定した。しかし、これは基礎的なメカニズム研究によって補完が可能であると考えられる。ゲノム解析の分野では、放影研の目的に合致する適切な方法論の構築が必要である。また基礎研究者にとって、最新の方法で最先端の研究を実施することが極めて重要である。このような研究は被爆者研究に重要な知見と方向性をもたらすだけでなく、有益な研究テーマとなり、次世代の研究者が研鑽を積むことを後押しする。これは、被爆者のバイオサンプルを用いる長期的プロジェクトとそれよりも入手が容易なバイオサンプルを用いる短期的プロジェクトの活動を両立させる必要がある若手研究員にとって特に重要である。

**勧告：**分生部は様々な目標と成果を示す多くのプロジェクトを発表した。総合的に、分生部の研究が原爆被爆者のデータとバイオサンプルを用いる遺伝的・ゲノム的アプロ

## 分子生物学部

一斉に移行していることを、SAC は注目すべき強みであると捉え、この方向性でさらに努力を傾注するよう奨励する。SAC が特に強みと考えるのは、トリオ研究、GWAS、原爆被爆者のクローン造血研究である。ヒトを対象とする研究との明確な関連性がないマウスモデルを使用する研究の多さに懸念がある。研究の中にはヒトを対象として容易に実施できない研究があること、あるいは貴重なヒトのバイオサンプルを研究に用いる前にマウスモデルでパイロット研究をした方がよい研究があることをSAC は理解している。しかし、そのような場合、提案する研究とヒトとの関連性、およびヒトバイオサンプルに研究を変換する計画について言及する特別のセクションをRP の要約の中にも含めることは有益であろう。

対応：分生部の基礎となる原爆被爆者のサンプルを使用する研究も確立し、優先順位付けしてきている。しかし、放射線影響の根本にあるメカニズムの解明を目的とする研究は、依然として重要であると考え。自由な発想を禁じると若手研究者は集まらず、研究所自体が尻すぼみになる可能性がある。外部資金での研究、あるいは短期間研究員を採用するポスドク制度を推奨すべきであり、今後はバランスが取れ活力に満ちた研究部として発展していきたい。これらのプロジェクトを、ヒトに応用するトランスレーショナル研究との関連性という観点から位置付けることが重要である。

## 2024年度業績

### ● 分子遺伝学研究室

#### 継代的影響「トリオゲノム研究」(ヒトにおける研究)

- 2024年1月より、トリオゲノム研究の参加者からの同意書取得に着手した。2024年12月末までに、対象集団全体の約55%に相当する314組のトリオから同意を取得した。2024年2月には、早期に同意が得られた3組のトリオの試料を用いて、DNAの品質を特定し、解析パイプラインを確立するための予備調査を開始した。短鎖次世代シーケンシング(NGS)を用いて60倍のカバレッジでWGSを実施した。スーパーコンピュータSHIROKANEを用いたデータ解析は円滑に進み、*de novo* 生殖細胞変異の特定に成功した。放影研のパイプラインと米国国立がん研究所の共同研究者が開発したパイプラインを用いて別々に実施した変異検出のデータ解析はほぼ同一の結果をもたらし、トリオゲノム研究の技術面における実行可能性が確認された。
- 原爆被爆者とその子どものバイオサンプルを用いた研究は特に慎重な扱いを要するため、トリオゲノム研究の成功には、研究対象者、地域社会、その他の利害関係者との継続的なコミュニケーションが不可欠であると思われる。2024年度には、本研究について研究対象者や一般市民に周知するため、いくつかの説明会や市民公開講座を開催した。説明会や市民公開講座の参加者の大部分から、本研究の実施を希望する旨の意見が寄せられた。これらの活動は新聞やテレビでも広く取り上げられた。
- 遺伝学的な二次的所見を研究対象者に返却する課題についても慎重に検討しており、放影研はゲノム解析から得られた情報で個人の健康に有益となり得るものについては返却する計画である。この課題に取り組むため、広島大学病院および長崎大学病院とパートナーシップを結び、遺伝学的所見の返却に関する具体的手順を策定する。2024年12月には、米国臨床遺伝・ゲノム学会(ACMG)の二次的所見に関するワーキンググループの共同議長を含む国内外の専門家数名を招き、トリオゲノム研究における結果の返却に関するELSI(倫理的、法的、社会的課題)について検討する国際シンポジウムを開催した。シンポジウムでの討議内容に基づき、結果の返却の指針となる遺伝子リストをまとめているところである。2025年に当該シンポジウムの報告書を学術誌へ投稿する予定である(内村ら、RP 3-23)。

#### 継代的影響(動物研究)

- 動物モデル実験の主な目的は、(1)全ゲノムレベルで発生するゲノム(エピゲノム)DNAの変化を検出する高精度なパイプラインを構築すること、(2)自然発生変異の頻度と特徴を把握すること、(3)放射線誘発変異の特徴を明らかにすることである。我々は、ヒトの疾患に関連する可能性がある大規模な染色体再編成を検出する新しい技術を開発した。モデル実験として、放射線照射マウスの家系において短鎖および長鎖シーケンシング技術を組み合わせたとこ、これまででない精度で構造多型(SV)を検出することができ、マウスの後継世代におけるSV頻度や親の被ばくの影響を推定することが可能となった。現在、マウスの生殖細胞における自然発生的な*de novo* 構造変異の頻度と特徴を明らかにする、世界初となる論文を執筆中である(佐藤ら、論文準備中)。また、大阪大学との共同研究において、放影研の高精度な変異検出システムを用いて胎生期の神経細胞1個体で起こる変異を解析し、神経細胞では脱メチル化異常が特定の*de novo* 変異を引き起こすことを解明した。(菅生、内村ら、投稿中)。(佐藤ら RP 2-13、RP S3-11)。内村副部長は、これらの研究により日本環境変異原ゲノム学会より2024年度研究奨励賞を受賞した。(研究奨励賞は、環境変異原学およびゲノム科学の分野で顕著な研究成果を上げた若手研究者を表彰するために設けられた。)

● 細胞ゲノム学研究室

放射線と疾患の分子機序 (動物研究)

- 染色体異常に関しては、胎生期の原爆放射線被ばくの影響は、成人期の被ばくに比べて有意に低いことが判明している。胎児には異常細胞を除去する内在性のメカニズムが存在する可能性がある。マウスにおいて、胎内で2 GyのX線照射を受けた後、17-66日齢のマウスの長期造血幹細胞 (LT-HSC) における転座頻度は6.9% (2/29) であり、照射から1日後の出生前解析で観察された頻度21% (9/43) よりも低かった。これは、胎仔のLT-HSCで生じた染色体異常が、発育に伴い消失することを示唆している (濱崎ら、RP P4-17)。
- 放射線誘発体細胞変異を変化させる可能性のある遺伝的および環境的要因を特定するため、NRF2 を欠損または恒常的に活性化した変異マウスを用いて、LT-HSC における変異に対する酸化ストレス応答の潜在的影響について調べた。野生型対照マウスでは、骨髄から分離したLT-HSC を体外で増殖させたクローン細胞集団の全ゲノムシーケンス解析により、SNV と小さなインデルが体細胞変異の最も一般的なタイプであり、8 週齢時に3.8 Gy の全身X 線照射を行うと最大で2-3 倍に増加することが示された (松田ら、*Proc Natl Acad Sci USA*, 2023)。同様の実験を変異マウスで行い、体細胞変異に関するWGS 解析を実施中である (田邊、松田ら、RP P3-19)。
- 放影研の疫学研究により、被爆時年齢が放射線による発がんリスクの重要な修飾因子であることが明らかになった。しかし、年齢影響に関する分子基盤は解明されていない。この課題に取り組むため、LT-HSC由来のクローンにおける体細胞変異をWGSにより同定するとともに、8週齢時 (成体期) に照射したマウスから得られた上記結果と比較することを目的に、野生型C57BL/6Jマウスに対し1週齢および2週齢時 (幼齢期) に3.8 GyのX線照射を行った。2週齢時に照射したマウスでは、LT-HSCの分離とクローン増殖実験は成功したが、1週齢時に照射したマウスの大部分は、LT-HSCの分離前5週間以内に死亡した (田邊、松田ら、RP P3-19)。

放射線の生物学的線量推定

- 原爆被爆者の染色体異常 (主に安定型転座) の頻度を放射線被ばくのマーカーとして用いる生物学的線量推定は、個人別の物理的線量計算を裏付け、改善する可能性がある。1966年に開始され、1989年には蛍光in situ ハイブリダイゼーション (FISH) 技術が取り入れられた本プロジェクトでは、合計1,868人の被爆者 (広島1,179人、長崎689人) について測定を実施した。DS02R1 線量を用いた最新の解析では、細胞遺伝学的に推定した個人別ガンマ線量の95%以上がDS02R1 線量のプラスマイナス約1 Gy の予想範囲内に収まり、線形回帰の平均勾配は0.98 と、DS02R1 研究の妥当性を裏付けるものであった。結果は要約報告書として発表された (児玉 (喜) ら、*Int J Radiat Biol*, 2024)。

(児玉 (喜) ら、RP8-93、論文発表により完了)

● 分子病理学研究室

プラットフォーム、インフラストラクチャーおよび方法

- 放射線発がんの病理学的機序を解明し、新規バイオマーカーを見つけるため、放影研に保管されている保存剖検試料を使用する可能性について検討している。この目標に向け

## 分子生物学部

マウスモデルを用いた取り組みの第一段階として、マウスの肝臓のホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織標本を液体クロマトグラフィー質量分析法 (LC-MS) で予備解析した。その結果、ホルマリン固定期間を予測する潜在的な品質マーカーとして HNRNPA2/B1 と STT3B を同定した (小林、伊藤、多賀ら、*J Proteomics*, 2024)。今回の成果は、質量分析と FFPE 組織解析を統合したバイオマーカー同定の実行可能性を示したものである (伊藤、多賀ら、RPなし; 論文発表済み)。

### ● 免疫学研究室

#### 放射線と疾患の分子機序 (ヒトにおける研究)

- 原爆被爆者におけるクローン造血 (CH) の発生およびそれと疾患との関連性について調査するため、AHS対象者の保存血液試料を用いるCH研究を開始した。全エクソーム高深度シーケンシング (WES) およびT細胞受容体 (TCR) シーケンシングが完了し、現在、CH体細胞変異およびT細胞クローン増殖を特定するため、放影研でデータの妥当性を検証中である。原爆投下後の健康状態の回復過程における造血細胞の増殖と拡大の動態を明らかにするために、経時的に収集され保存された血液試料を用いた研究を追加で計画している (吉田健ら、RP 1-23-1)。

#### 放射線と疾患の分子機序 (動物研究)

- マウスにおいて、放射線は血液細胞において高頻度の体細胞変異を伴うCHを誘発するが、造血前駆細胞とリンパ球のクローン増殖に対する放射線の影響は依然として不明である。我々は、3 Gyの放射線照射から18ヶ月経過したマウスにおけるCH変異とTCRおよびB細胞受容体 (BCR) の配列を調べたところ、放射線は骨髄において成熟リンパ球よりも造血前駆細胞のクローン増殖を優先的に誘発することが判明した (吉田健ら、*Stem Cell Reports*)。

(吉田健、楠ら、RP1-23-3)

#### プラットフォーム、インフラストラクチャーおよび方法

- 放射線リスクに対する個人の感受性に関する理解を深めるため原爆被爆者における全ゲノム関連解析 (GWAS) を計画しているが、その準備として本実行可能性調査では、72万個のプローブを搭載したSNPアレイによる遺伝子型判定に、被爆者の古い血液塗抹標本、ギムザ染色した染色体試料、血液浸潤ペーパーディスクから抽出したDNAを利用することについて適用性を評価した。20年前のペーパーディスクから抽出しREPLI-gで増幅したDNAでは、SNPアレイを用いた遺伝子型判定に成功した。標準的な方法では、10年以上保存されていた塗抹標本から抽出したDNAの品質が低く、REPLI-g増幅を実施しても十分な遺伝子型判定データを生成できなかった。しかし、我々は新規のマルチコンビネーションシステムを開発し、10-50年前の血液塗抹標本からDNAを増幅することに成功し、SNPアレイタイピングにおいて十分なコール率と精度を達成した。一方、ギムザ染色した30年前の試料から抽出したDNAについてマルチコンビネーションシステムを用いて増幅を行ったが、解析できなかった。(林ら、RP P2-22)