

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 12 日現在

機関番号：37116

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07774

研究課題名(和文) 低線量放射線の寿命延長効果における遺伝的解析とバイオマーカーとしての応用

研究課題名(英文) Genetic analysis in the life prolonging effect of low dose radiation, and applications as biomarkers

研究代表者

岡崎 龍史 (OKAZAKI, RYUJI)

産業医科大学・産業生態科学研究所・教授

研究者番号：50309960

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：p53遺伝子正常の8週齢マウスでは、2 cGy照射後3Gy照射した群は、3Gy単独照射群よりも寿命が延長した。p53遺伝子ヘテロマウス(p53量が半分)や40週齢マウスでは寿命延長効果がなかった。8週齢に比べ40週ではp53遺伝子の発現が減少しており、アポトーシス発生は2cGy+3Gy群と3Gy群で差がなかった。生命現象において重要な役割を担うmicroRNAの解析では、0Gy、2 cGy、2cGy+3Gy、3Gyの各照射群で発現するmicroRNAが異なった。バイオマーカーとなるmicroRNAがある可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低線量放射線影響を評価することは難しい。あらかじめ低線量被ばくしたのち高線量被ばくすると、高線量被ばく単独の影響が軽減する。放射線適応応答という現象で、低線量被ばくの影響を科学的に証明できる唯一の方法である。

今回、p53遺伝子壊変マウスを用いて、寿命を指標として放射線適応応答がみられるかどうか観察した。p53遺伝子正常の8週齢マウスでは寿命延長効果がみられ、p53ヘテロマウス及び40週齢マウスでは延長しなかった。ゲノムの守護神と言われるp53遺伝子が放射線適応応答に重要な役割を果たしている。様々な変異源でもみられる現象であり、福島原発作業員の影響を評価する上で意義のある成果である。

研究成果の概要(英文)：In the p53 gene normal 8-week-old mice, lifespan in the 2cGy+3Gy irradiated group extended than 3Gy alone irradiated group. There was no life-prolonging effect in p53 gene heterozygous mice (half the amount of p53) and 40-week-old mice. Expression of the p53 gene decreased at 40 weeks compared to 8 weeks of age, and there was no difference in the development of apoptosis between the 2cGy + 3Gy group and the 3Gy group. In the analysis of microRNAs that play an important role in biological phenomena, the microRNAs expressed in each irradiation group of 0Gy, 2cGy, 2cGy + 3Gy, and 3Gy were different. It was suggested that microRNAs could be biomarkers.

研究分野：放射線生物学

キーワード：放射線適応応答 p53遺伝子 低線量放射線 寿命延長効果

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 福島原発事故の緊急作業者の多くは低線量被ばくをしており、その影響を解析することは重要である。低線量被ばくの影響を科学的に証明することは困難であるが、唯一放射線適応応答は低線量の影響を評価できる。放射線適応応答とは、あらかじめ低線量を前照射しておく、高線量の影響が軽減する現象である。前照射の線量は0.15~1 Gyとする報告が散見され、決して低くない。我々は、2 cGy前照射でその後2 Gyをマウスに全身照射すると、脾臓におけるアポトーシスが減少したこと、あるいは妊娠マウス照射では胎児の奇形発生が抑制されたことを報告した。またアポトーシス数の有意な減少がみられた前後照射の時間間隔は、*p53*遺伝子正常マウスで2時間から168時間、*p53*ヘテロマウス(*p53*遺伝子量が正常の半分)では2時間から4時間であり、放射線適応応答では、*p53*遺伝子が関与していることを示唆していると報告した。

(2) しかしこれらの奇形発生やアポトーシスの抑制は、DNA修復があったのか、DNA損傷や遺伝子不安定性が残っているのかは不明である。それを検証するために、長期的に寿命を観察し、寿命延長がみられれば間接的にそれらが証明でき、さらに経時的な遺伝子等の解析が重要であると考えた。

(3) 放射線影響のバイオマーカーはないがとされているが、microRNAが注目されている。がん細胞増殖におけるLet-7a、がん遺伝子として機能するmiR-372やmiR-373等、疾患や機能との関係が解明され始めており、放射線発がんという観点からバイオマーカーの可能性も考えられる。特にLet-7は放射線被ばくに関与するという報告がある。

2. 研究の目的

(1) 8週齢と40週齢の*p53*遺伝子壊変マウスを用いて、照射方法を対照群、低線量照射群、低線量照射+高線量群及び高線量群の4群とし、放射線適応応答の現象として、寿命が延長するかどうかを解析する。放射線適応応答に*p53*遺伝子の関与があるどうか、*p53*遺伝子正常マウスと*p53*ヘテロマウスの寿命延長効果の違いにより検討する。また8週齢と40週齢マウスの寿命を比較することにより、老化による違いも検討する。

(2) また、*p53*遺伝子機能の違いを比較することによって、放射線適応応答における*p53*遺伝子の関与を明らかにする。

(3) さらに、照射4群におけるmicroRNAの発現の違いを比較し、低線量放射線のバイオマーカーの可能性について検討する。

3. 研究の方法

(1) 実験マウス：産業医科大学にて継代維持している8週齢の*p53*遺伝子正常マウス、*p53*ヘテロマウス及び40週齢の*p53*遺伝子正常マウスを用いた。

(2) 照射線量：0 Gy(非照射群)、2 cGy、3 Gy、2 cGy照射96時間後3 Gy照射(2 cGy + 3 Gy群)の4群とした。

(3) 解析項目：

- I. 生存率曲線にて4照射群の寿命の評価(カプランマイヤー法)
- II. 8週齢と40週齢での*p53*の機能であるアポトーシスの発現の違い
- III. 8週齢における4照射群のmicroRNA発現の違い

4. 研究成果

(1)放射線適応応答による生存率曲線の違い

8週齢 *p53* 遺伝子正常マウスでは、2 cGy + 3 Gy 群は3 Gy 単独照射群に対して寿命延長がみられた(図1A)。8週齢 *p53* ヘテロマウス(図1B)及び40週齢 *p53* 遺伝子正常マウス(図1C)では、寿命延長はみられなかった。

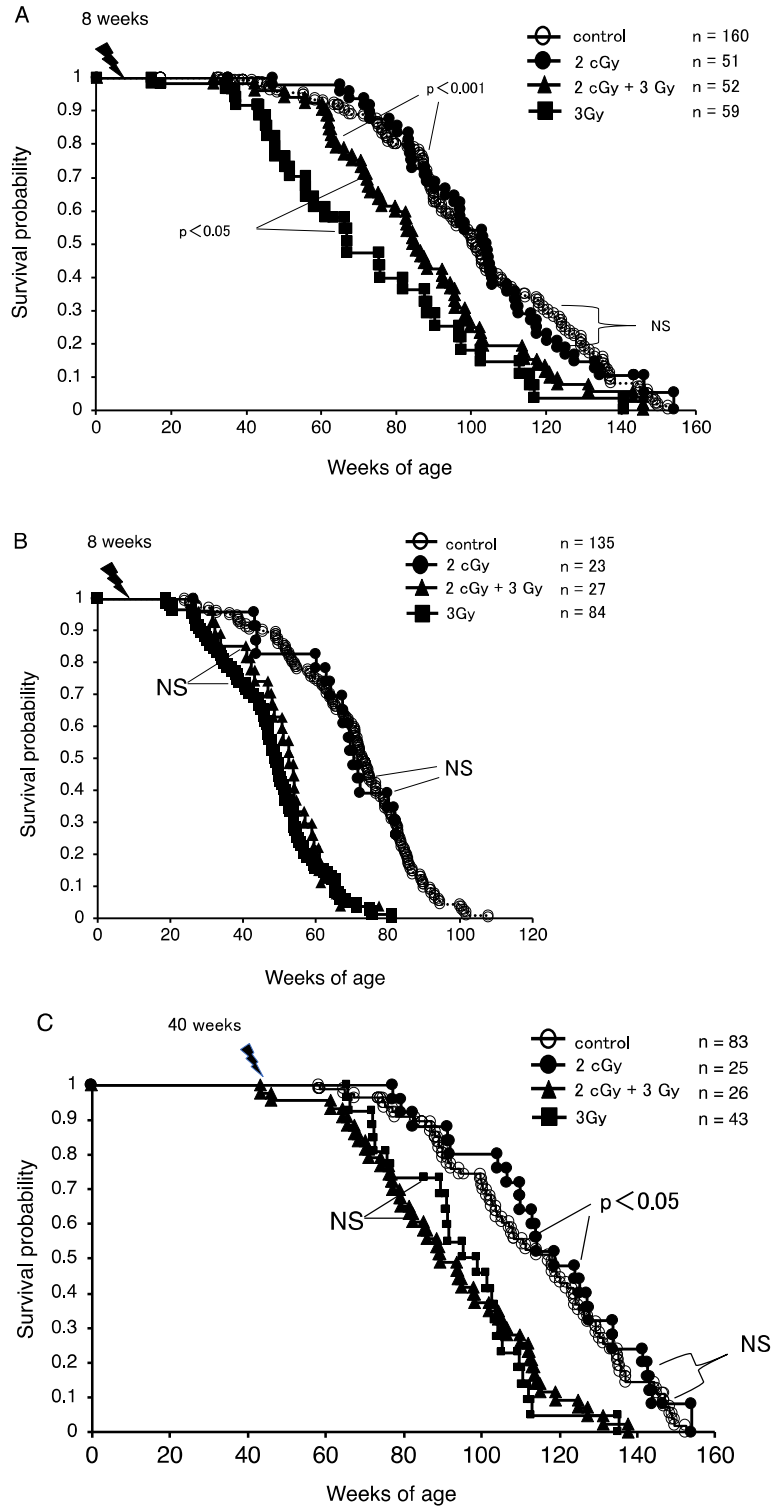


図1:放射線適応応答による寿命の変化

(2) 8週齢並びに40週齢 *p53* 遺伝子正常マウスのアポトーシス発現の違い

p53 遺伝子機能の一つであるアポトーシスの発現の違いを、8週齢と40週齢 *p53* 遺伝子正常マウスを用いて、放射線適応応答が見られるかどうかを、最終照射から照射4時間後と72時間後に比較した。8週齢マウスでは、2 cGy + 3 Gy 群は3 Gy 単独照射群に対して、4時間後及び72時間後ともに、アポトーシス発現が減少する傾向がみられたが、40週齢マウスではいずれも差がみられなかった(図2)。

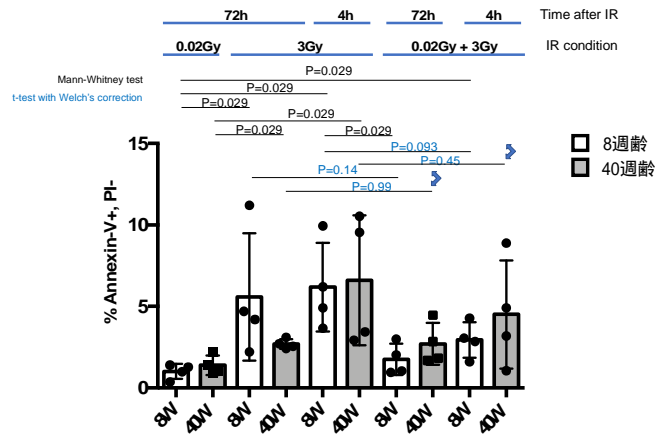


図2: 放射線適応応答における週齢によるアポトーシス発現の違い

(3) 照射方法による microRNA の発現の違い

8週齢 *p53* 遺伝子正常マウスに照射後4時間にて採血を行い、3匹分の血清をまとめ microRNA のヒートマップを作成した。ほとんど影響がないと考えられていた2 cGy でも未照射と異なるヒートマップがみられた。2 cGy+3 Gy 群と3 Gy 単独照射群においても異なるヒートマップがみられ、バイオマーカーとなる microRNA が存在する可能性があると考えられた(図3)。

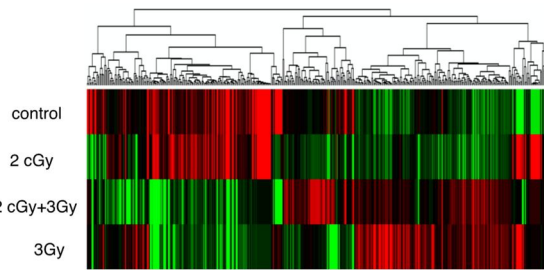


図3: 放射線適応応答のヒートマップの違い

引用文献

Okazaki R. et al, Radiat Res.163:266-270.2005
 Okazaki R. et al, Radiat Res.167:51-57.2007
 Boyerinas B. et al, Endocr Relat Cancer. 17(1): F19-36. 2010
 Voorhoeve PM. et al, Cell 124: 1169-1181. 2006
 Palmer RD. et al, Cancer Res 70: 2911-2923. 2010
 Chen Z. et al, Environ Toxicol Pharmacol. 40(2):541-8. 2015

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Kohzaki Masaoki, Ootsuyama Akira, Sun Lue, Moritake Takashi, Okazaki Ryuji	4. 巻 146
2. 論文標題 Human RECQL4 represses the RAD52 mediated single strand annealing pathway after ionizing radiation or cisplatin treatment	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 3098-3113
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ijc.32670	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計33件（うち招待講演 2件／うち国際学会 5件）

1. 発表者名 M Bekal, L Sun, N Kanzaki, S Ueno, R Okazaki, T Moritake
2. 発表標題 Acute effects of low doses of Radiation on cognition
3. 学会等名 The 7th GI-CoRE Medical Science and Engineering Symposium（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Bekal M, Sun L, Ueno S, Okazaki R, Moritake T
2. 発表標題 Acute effects of low doses of Radiation on cognition and Antioxidant Status.
3. 学会等名 第37回産業医科大学学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 香崎正由, 梅本友生美, 大津山彰, 盛武敬, 岡崎龍史
2. 発表標題 個体差を考慮した放射線誘発がん関連miRNAの探索
3. 学会等名 第37回産業医科大学学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 香崎正宙, 阿部利明, 大津山彰, 塚本学, 盛武敬, 岡崎龍史
2. 発表標題 低線量率長期内部被ばく C57BL/6マウスは加齢に伴う骨量減少を低減するが寿命短縮や発癌は抑制しない
3. 学会等名 日本放射線影響学会第62回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡崎龍史
2. 発表標題 低線量・低線量率放射線影響の研究使命－放射線生物学研究のパラダイムシフトへ向けて
3. 学会等名 日本放射線影響学会第62回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 香崎正宙, 大津山彰, 孫略, 盛武敬, 岡崎龍史
2. 発表標題 がん治療後に特殊なDNA修復経路活性化機構を有するがん細胞を用いた最適化がん治療への応用
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kohzaki M, Ootsuyama A, Abe T, Umata T, Moritake T, Okazaki R
2. 発表標題 Is there Onset Threshold of T-cell Lymphomas Induced by Low-Dose of Ionizing Radiation?
3. 学会等名 The 2nd International Symposium of the Network-type Joint Usage (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 香崎正宙, 大津山彰, 盛武敬, 岡崎龍史
2. 発表標題 放射線や抗がん剤処理によって誘導されるDNA修復経路選択機序の解析
3. 学会等名 第55回放射線影響懇話会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Okazaki R, Kohzaki M, Lue S, Suzuki K, Moritake T, Ootsuyama A
2. 発表標題 The Effects of Priming Dose on Prolonging Life Span in Radioadaptive Response
3. 学会等名 64th Annual Radiation Research Society meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Bekal M, Sun L, Kanzaki N, Ueno S, Okazaki R, Moritake T
2. 発表標題 Acute effects of low doses of radiation on cognition
3. 学会等名 日本放射線影響学会 第61回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kohzaki M, Ootsuyama A, Sun L, Moritake T, Okazaki R
2. 発表標題 Molecular mechanisms of cancer-specific DNA repair pathway choice after ionizing radiation or chemotherapy
3. 学会等名 日本放射線影響学会 第61回大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	香崎 正宙 (Kohzaki Masaoki) (90717977)	産業医科大学・産業生態科学研究所・助教 (37116)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------