

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年3月31日現在

機関番号：15401
 研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2008～2012
 課題番号：20406030
 研究課題名（和文） 旧ソ連邦セミパラチンスク核実験場周辺住民に多発する顎顔面口腔疾患の分子疫学的研究
 研究課題名（英文） A Molecular-epidemiological study of oral and maxillofacial disease among the residents living in Semipalatinsk nuclear test site in Kazakhstan
 研究代表者
 岡本 哲治（OKAMOTO TETSUJI）
 広島大学・大学院医歯薬保健学研究院・教授
 研究者番号：00169153

研究成果の概要（和文）：1949年から1989年の間に、旧ソ連(現カザフスタン共和国)セミパラチンスク核実験場(SNT)において行われた458回の核実験により、周辺住民に、高い頻度で造血系、循環器系、腫瘍性疾患等が発症している。本研究ではSNT周辺および対照地域住民における先天異常、口腔疾患の調査研究を行い、高線量および中等度被曝地域での高い唇顎口蓋裂発症率と口腔疾患罹患率を見だし、放射線の顎・顔面・口腔系への影響は深刻であることが強く示唆された。

研究成果の概要（英文）：

From 1949 to 1989, 30 surface, 88 atmospheric and 340 underground nuclear and thermonuclear explosions of nuclear weapons were carried out by former Soviet Union at the Semipalatinsk Nuclear Test Site (SNTS) in Kazakhstan that resulted in high local fallout affecting the residents in the villages adjacent to the SNTS. The radiation effect on predisposition of oral and maxillofacial disorders among the exposed people from the SNTS areas remains unknown. The purpose of this study is to investigate a possible relationship between long-term radiation exposure by nuclear testing and predisposition of Oral maxillofacial anomalies such as Cleft lip & Palate (CLP) and oral diseases such as periodontitis. In conclusion, this study strongly suggests that the inhabitants in exposed villages adjacent to SNTS might be considered a population at risk for high prevalence of oral & maxillofacial lesions. It is possible that this heightened risk resulted from long-term radiation exposure.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|------------|-----------|------------|
| 2008年度 | 3,000,000 | 900,000 | 3,900,000 |
| 2009年度 | 2,400,000 | 720,000 | 3,120,000 |
| 2010年度 | 2,400,000 | 720,000 | 3,120,000 |
| 2011年度 | 2,400,000 | 720,000 | 3,120,000 |
| 2012年度 | 2,500,000 | 750,000 | 3,250,000 |
| 総計 | 12,700,000 | 3,810,000 | 16,510,000 |

研究分野：口腔外科学

科研費の分科・細目：外科系歯学

キーワード：セミパラチンスク核実験場、低線量放射線被ばく、先天異常、分子疫学、遺伝子多型、口腔疾患罹患率、唇顎口蓋裂発症率、顎口腔顔面疾患

1. 研究開始当初の背景

1949年から1989年の間に、旧ソ連（現カザフスタン共和国）セミパラチンスク核実験場(SNT)において458回の核実験（地上30回、大気中88回、地下340回）が行われ、SNT地域住民に急性・慢性の放射能被爆をもたらし、高い頻度で造血系、循環器系、腫瘍性疾患等が発症している。

私たちは、平成12年-18年度に行った調査で、SNT周辺の高線量被ばく地域：HIR(1.0 Sv以上)における唇顎口蓋裂発症率および口腔疾患罹患率は中等度被爆地域MIR(0.5-1.0 Sv)や対照地域：CONと比較して有意に上昇していること、HIRの欠損歯数、口腔疾患罹患率、全身疾患罹患率はCONと比較して有意に上昇していることを明らかにした。

2. 研究の目的

本研究では、SNT周辺住民への低線量被ばくの影響を分子疫学的に明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

平成16-18年度に核実験場周辺住民から採取した血液および唾液・歯垢由来のDNAを用いてIL-1 α (889)およびIL-1 β (-511) 遺伝子の多型および口腔常在菌ならびにHelicobacter pylori : H. pについてPCR法を用いて検討するとともに、日本人患者及び健康人における口腔常在菌ならびにH. pについてもPCR法を用いて検討し、カザフスタンと日本での比較検討を行った。

セミパラチンスク地域病院口腔外科で診断に苦慮していた、核実験場周辺住民で、全身的に血管腫を有する患者3名の末梢血よりDNAを抽出し、MSX-2、EDA遺伝子、Tie2、pit-x2、sonic hedgehog、patched、および種々の血管形成に関与する遺伝子変異についてPCR-SSCP法およびそれに続く、direct sequence法にて検討した。

さらに、SNTS周辺住民の永久歯エナメルを用いて、electron spin resonance (ESR)法で各個体の吸収線量評価を行った。対象は、1949年に旧ソ連邦により行われた最初の核実験で最も汚染された、爆心地から100kmに位置するDolon地域の住民、さらに1956年8月24日に実施された核実験の影響を強く受けたUst-Kamenogorsk city、Shemonaikha地域の住民である。これら地域住民から歯周病などのため抜歯された大臼歯が用いられた。対照として、核実験場から400kmはなれた核実験の影響を受けていないKokpekty地域の住民由来大臼歯を用いた。また、カザフスタン共和国セミパラチンスク核実験場(SNTS)から北東に400km離れ、中国のロプノール核実験場からは1000km離

れている、中国国境に近いカザフスタン共和国のマカンチ、ウルザール、タスケスケン地域在住の住民の、歯周疾患などで抜歯した歯のエナメルを用いて、electron spin resonance (ESR)法で各個体の吸収線量評価を行った。対象は、1966年から1981年までこれら地域に住んでいた住民より歯科疾患で抜歯した大臼歯(11本)、小臼歯(10本)、切歯(1本)であった。また、SNT核実験場から400kmはなれた、核実験の影響を受けていないコクペッティ地域住民由来の11本の歯が対照として用いた。

4. 研究成果

CONとHIRの成人で、因子A[IL-1 α (889)、IL-1 β (-511) 遺伝子多型]と因子B[地域差]を従属変数、喪失歯数(CON: 10.37本, HIR: 15.43本)を目的変数として、二元配置法による分散分析を行い、遺伝子多型により喪失歯数の違いがみられた($p < 0.01$)。また、地域差がより大きな喪失歯数への影響因子と考えられた。また、SNTS周辺住民における歯周病原菌の検出頻度と歯周病態は相関しており、歯周病発症に関与する細菌叢の成立には特にA. a, T. d, P. iの3菌種が深く関わっていることが示唆された。また小児期からP. gを高頻度に認めた。日本人に比べ歯周病発症のリスクが高いと考えられた。H. p感染率は欧米などでは低く、アジア・アフリカでは高い。SNTS周辺住民の感染パターンはザイールと類似していた。HIR地域住民における高い喪失歯数は、口腔内細菌叢の変化ではなく環境因子や宿主側因子に起因することが示唆された。

セミパラチンスク地域病院口腔外科で診断に苦慮していた、核実験場周辺住民で、全身的に血管腫を有する患者3名の遺伝子診断を行った結果、血管平滑筋細胞の増殖・分化に関与するTie-2遺伝子のチロシンキナーゼ領域および同タンパクのC-末端領域をコードするexonの遺伝子変異を明らかにした。症例1では、Tie-2遺伝子のチロシンキナーゼ(TK-1)領域のA2659T変異を認め、この変異はGlutamine→Histidine(Q837H)のアミノ酸置換を示唆した。症例2では、Tie-2遺伝子のTK-1領域のG2646A変異を認め、この変異はGlycine→Aspartic acid(G833D)のアミノ酸置換を示唆した。一方、症例3では、TK領域ではなく、TK-2のC-末端コード領域にA→G変異を認め、同変異はAsp1065Glyのアミノ酸置換を示唆した。これら変異により、Tie-2のリガンドであるAngiopoietin-1, -2に依存しない持続的なTie-2受容体のTKの活性化を引き起こすことにより、平滑筋細胞への分化が抑制され

ることで血管腫（静脈奇形）が発症している可能性が考えられた。この結果は、Tie-2 遺伝子が放射線感受性遺伝子である可能性を示唆している。今後、さらなる詳細な検討が必要である。

SNTS 周辺住民の大臼歯のエナメルを用いて、electron spin resonance (ESR) 法で各個体の吸収線量評価を行った。その結果、自然被曝線量を差し引いて、Dolon 地域の核実験の開始前にエナメル質が形成された大臼歯では、最大 450mGy の被曝線量を認めた。一方、核実験後にエナメル質が形成された大臼歯では 100mGy 以下を示した。また、Ust-Kamenogorsk city および Shemonaikha 地域では、同様に 114 mGy および 110mGy の被曝線量を認めた。これらのデータは、今までの線量評価とよく一致していた。また、中国国境に近いカザフスタン共和国のマカンチ、ウルザール、タスケステン地域在住の住民の、歯周疾患などで抜歯した歯のエナメルを用いて、electron spin resonance (ESR) 法で各個体の吸収線量評価を行った結果、自然被曝線量を差し引いて、マカンチ地域では 62 ± 28 mGy、ウルザール地域では 64 ± 30 mGy、タスケステン地域では 49 ± 27 mGy であり、対照地域では -19 ± 36 mGy の外部被曝線量を認めたことから、これら地域ではロブノールでの核実験の影響を受けている可能性が考えられた。本方法は放射線被曝後 40 年以上経過しても被曝線量評価が可能な、有用な方法であることが明らかとなった。今後さらに SNT 周辺の他の被曝地域も対象に本方法を用いて評価する予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 15 件)

1. Ectomesenchymal chondromyxoid tumor of the tongue: insights on histogenesis. Yoshioka Y, Fukui Y, Okamoto T. 他 6 名、*Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* Feb;115(2):233-40. 2013. 査読有
2. Ameloblastic carcinoma, secondary type, of the mandible: a case report. Yoshioka Y, Toratani S, Ogawa I, Okamoto T. *J Oral Maxillofac Surg.* Jan;71(1):58-62. 2013. 査読有
3. $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ down-regulates HBp17/FGFB P-1 expression via NF- κ B pathway. Rosli SN, Shintani T, Hayashido Y, Toratani S, Usui E, Okamoto T. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2012 Oct 24. (12) 00212-9. 査読有
4. Novel cytotoxic polyoxygenated steroids from an Okinawan sponge *Dysidea* sp. Yoshioka Y, Okamoto T, Ojika M. 他 4 名、*Biosci Biotechnol Biochem.* 2012;76(5):999-1002. 査読有
5. Cyclolobatriene, a novel prenylated germacrene diterpene, from the soft coral *Lobophytum pauciflorum*. Yoshioka Y, Okamoto T, Ojika M. 他 3 名 *Bioorg Med Chem.* 2012, 15;20(2):687-92. 査読有
6. The Influence Of The Lop Nor Nuclear Weapons Test Base To The Population Of The Republic Of Kazakhstan, Zhumadilov K., Okamoto, T., Hoshi-M., 他 3 名, *Radiation Measurements.* 46 (2011), 425-429. 査読有
7. FGFR1 abrogates inhibitory effect of androgen receptor concurrent with induction of androgen-receptor variants in androgen receptor-negative prostate tumor epithelial cells. Kobayashi M, Okamoto T, Wang F, McKeehan WL. 他 3 名 *Prostate* (2011) Nov;71(15):1691-700. 査読有
8. Growth factor-defined culture medium for human mesenchymal stem cells. Mimura S, Okamoto T, Furue MK. 他 7 名 *Int J Dev Biol.* 2011;55(2):181-187. 査読有
9. Tissue culture: the unlimited potential. Sato GH, Sato JD, Okamoto T, McKeehan WL, Barnes DW. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2010 Jul;46(7):590-4. 査読有
10. Advantages and difficulties in culturing human pluripotent stem cells in growth factor-defined serum-free medium. Furue MK, Okamoto T, Sato JD. 他 3 名 *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2010 Jul;46(7):573-6. 査読有
11. Binding of APC and dishevelled mediates Wnt5a-regulated focal adhesion dynamics in migrating cells. Matsumoto S, Fumoto K, Okamoto T, Kaibuchi K, Kikuchi A. *EMBO J.* 2010 Apr 7;29(7):1192-204. 査読有
12. ESR dosimetry study on population of settlements nearby Ust-Kamenogorsk city, Kazakhstan. Zhumadilov K, Ivannikov A, Zharlyganova D, Zhumadilov Z, Stepanenko V, Apsalikov K, Ali MR, Zhumadilova A, Toyoda S, Endo S, Tanaka K, Okamoto T, Hoshi M. *Radiat Environ Biophys.* (2009) Nov;48(4):419-25. 査読有
13. Heparin promotes the growth of human embryonic stem cells in a defined serum-free medium. Furue MK, Okamoto T, Sato JD, Andrews PW. 他 6 名 *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Sep 9;105(36):13409-14. 査読有
14. High prevalence of cleft lip and palate deformities among the residents of the Semipalatinsk nuclear test site area in Kazakhstan. Zhumadilova, A., Hoshi, M., Okamoto, T. 他 9 名. *Indian Journal of*

Radiation Research (IJRR), Volume: 5, No.: 1, 1-6. 2008, 査読有

15. Coincident two mutations and one single nucleotide polymorphism of the PTCH1 gene in a family with naevoid basal cell carcinoma syndrome., Yan Z, Okamoto T, Tokura Y. 他4名 Acta Derm Venereol. 2008;88(6):635-6. 査読有

〔学会発表〕(計25件)

招待講演

1. Phoenix Leader Education Program (Hiroshima Initiative) for Renaissance from Radiation Disaster, Consultants' Meeting, Global Radiation Medicine: Educational Challenges for Academia, 29 October-02 November 2012, Venue: IAEA Headquarters, Vienna, Austria, Tetsuji Okamoto
2. 「広島大学の現状と産学連携の取組み」岡本哲治、広島中央サイエンスパーク施設20周年記念講演会(平成24年10月19日)広島中央サイエンスパーク、東広島市
3. 「広島大学の現状および放射線災害復興を推進するフェニックスリーダー育成プログラム」岡本哲治、(平成24年10月8日)サンパウロ広島文化センター、サンパウロ市、ブラジル
4. 「口腔がんに対する細胞治療」岡本哲治 日中歯科医学大会 基調講演(平成24年4月27日)成都医科大学、四川省成都、中国
5. Long term serial cultivation of mouse induced pluripotent stem cells in serum free- and feeder-free growth factor defined culture. Annual Meeting of Association for Dental Sciences of the Republic of China, in Taichung, Aug 27, 2011. Tetsuji Okamoto
6. Developmental Signaling Disorders in Craniofacial Anomalies and Cancers. Annual Meeting of Association for Dental Sciences of the Republic of China, in Kaohsiung, Nov. 28, 2009. Tetsuji Okamoto,
7. An Innovative Therapy for Oral Cancer: Research-based Clinical Application of Cell Therapy. Annual Meeting of Dental Science in Taipei, Nov. 17, 2008. Tetsuji Okamoto,

国際学会

8. Analysis of binding site of ubiquitin ligase, human double minute 2 in integrin $\beta 8$ in Oral Squamous Cell Carcinoma cell lines: Sakaue T., Hayashido Y., Hamana T., Fujii T., Okamoto T.: The 2th International Symposium Suggestion for the Renaissance from Radiation Disaster (Hiroshima), Feb. 11, 2013.

9. $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ down-regulates FGF-BP expression through NF κ B pathway: Rosli S.N.Z., Shintani T., Hayashido Y., Toratani S., Usui E., Okamoto T.: The 2th International Symposium Suggestion for the Renaissance from Radiation Disaster (Hiroshima), Feb. 11, 2013.
10. Generation of disease-specific human induced pluripotent stem (iPS) cells from dental pulp cells of a patient with Cleidocranial dysplasia in serum-and feeder-free culture: Mukasa H., Yamasaki S., Okamoto T.: The 2th International Symposium Suggestion for the Renaissance from Radiation Disaster (Hiroshima), Feb. 11, 2013.
11. Generation of induced pluripotent stem cells from dental pulp cells in serum-free and feeder-free culture condition: Taguchi Y., Yamasaki S., Shimamoto A., Tahara H., Okamoto T.: The 2th International Symposium Suggestion for the Renaissance from Radiation Disaster (Hiroshima), Feb. 11, 2013.
12. Participation of heterodimer formation with integrin αv subunit in the stability of integrin $\beta 8$ subunit in squamous cell carcinoma cells: Fujii T., Hayashido Y., Hamana T., Sakaue T., Okamoto T.: The 2th International Symposium Suggestion for the Renaissance from Radiation Disaster (Hiroshima), Feb. 11, 2013.
13. Generation of human induced pluripotent stem (iPS) cells in serum- and feeder-free defined culture from fetal lung fibroblasts and dental pulp: Yamasaki S., Shimamoto A., Tahara H., Okamoto T.: 2012 World congress on In Vitro Biology, Bellevue, Washington, USA, June 25, 2012.
14. $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ down-regulates FGF-BP expression through NF κ B pathway: Rosli S.N.Z., Shintani T., Hayashido Y., Toratani S., Usui E., Okamoto T.: 15th Workshop on Vitamin D (Houston, Texas, USA), June 21, 2012.

国内学会

15. $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ down-regulates HBp17/FGFBP-1 by inhibiting NF κ B activity: Rosli S.N.Z., 新谷智章、笛吹恵美子、岡本哲治: 第85回日本生化学会大会(福岡)、平成24年12月15日.
16. インテグリン $\beta 8$ におけるユビキチンリガーゼ human double minute 2 (hdm2) 結合部位の探索: 藤井隆彦, 林堂安貴, 坂上泰士, 浜名智昭, 岡本哲治: 第49回日本口腔組織培養学会(広島)、平成24年11月12日.

17. 鎖骨頭蓋異形成症患者歯髄由来細胞を用いた疾患特異的ヒト人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) の樹立: 向笠英恵、山崎佐知子、田口有紀、嶋本顕、田原栄俊、岡本哲治: 第 49 回日本口腔組織培養学会 (広島)、平成 24 年 11 月 12 日.
18. $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ suppresses HBp17/FGFBP-1 expression via NF κ B pathway in oral squamous cell carcinoma: Rosli S.N.Z.、新谷智章、林堂安貴、笛吹恵美子、岡本哲治: 第 49 回日本口腔組織培養学会 (広島)、平成 24 年 11 月 12 日.
19. Analysis of binding site of ubiquitin ligase, human double minute 2 in integrin $\beta 8$: 坂上泰士、林堂安貴、浜名智昭、藤井隆彦、岡本哲治: 第 71 回日本癌学会学術総会 (札幌)、平成 24 年 9 月 20 日.
20. 鎖骨頭蓋異形成症患者歯髄由来細胞を用いた疾患特異的ヒト人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) の樹立: 山崎佐知子、嶋本顕、田原栄俊、岡本哲治: 第 66 回 NPO 法人日本口科学会 (広島)、平成 24 年 5 月 17 日.
21. ヒト人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) の単層無血清培養系の確立: 田口有紀、山崎佐知子、嶋本顕、田原栄俊、岡本哲治: 第 66 回 NPO 法人日本口科学会 (広島)、平成 24 年 5 月 17 日.
22. インテグリン $\beta 8$ におけるユビキチンリガーゼ human double minute 2 (hdm2) 結合部位の探索: 藤井隆彦、林堂安貴、浜名智昭、坂上泰士、岡本哲治: 第 66 回 NPO 法人日本口科学会 (広島)、平成 24 年 5 月 17 日.
23. インテグリン αv サブユニットとの二量体形成が $\beta 8$ サブユニットの安定化に与える影響: 坂上泰士、林堂安貴、浜名智昭、藤井隆彦、岡本哲治: 第 66 回 NPO 法人日本口科学会 (広島)、平成 24 年 5 月 17 日.
24. 口腔扁平上皮癌細胞における SP 細胞群の癌幹細胞としての細胞・分子生物学的特性の検討: 伊藤翼、藤井良典、岡本哲治: 第 66 回 NPO 法人日本口科学会 (広島)、平成 24 年 5 月 17 日.
25. 口腔扁平上皮癌細胞株を用いた活性型ビタミン D3 による FGFBP/ HBp17 蛋白発現の検討: Rosli S.N.Z.、新谷智章、林堂安貴、笛吹恵美子、岡本哲治: 第 66 回 NPO 法人日本口科学会 (広島)、平成 24 年 5 月 17 日.

[図書] (計 1 件)

1. 白砂兼光, 占郷幹彦, 他: "口腔外科学" 医歯薬出版. 815 (2008)

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡本 哲治 (OKAMOTO TETSUJI)
広島大学・大学院医歯薬保健学研究院・教授
研究者番号: 00169153

(2) 研究分担者

吉岡 幸男 (YOSHIOKA YUKIO)
広島大学・大学院医歯薬保健学研究院・助教
研究者番号: 20335665

(3) 研究分担者

福井 康人 (FUKUI YASUTO)
広島大学・大学院医歯薬保健学研究院・助教
研究者番号: 90363085

(4) 研究分担者

星 正治 (HOSHI MASAHARU)
広島大学・原爆放射線医科学研究所・名誉教授
研究者番号: 50099090

(3) 連携研究者

()

研究者番号: