

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：37116

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K05386

研究課題名（和文）発がん高感受性モデルマウスを用いたトリチウムの生態影響評価

研究課題名（英文）Evaluation of Ecological Effects of Tritium Using Carcinogenesis Highly Susceptible Mouse Models

研究代表者

馬田 敏幸 (Umata, Toshiyuki)

産業医科大学・教育研究支援施設・准教授

研究者番号：30213482

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：発がん高感受性モデルマウス（ApcMin/+マウス）を用いて、トリチウム水を投与し低線量率での発がんへの影響を調べた。90MBqのトリチウム水の腹腔内投与で、小腸は7日間で2.4Gyの被ばくと見積もられた。腫瘍の発生状況を調べた結果、2.4Gyではトリチウム水非投与群のマウスと比較して腫瘍数が有意に増加したが、1.2Gyでは増加は見られなかった。腫瘍の細胞からゲノムDNAを抽出し、18番染色体のMitマーカーでLOH解析を行いトリチウムによるがん抑制遺伝子の機能消失パターンを解析した。トリチウム水非投与群のマウスと比較して、トリチウム水投与群のマウスは、特徴的な欠失は検出されなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低レベルのトリチウム暴露によって人体影響が出るかを、科学的なデータに基づいて議論するには、高感度の新規実験系を立ち上げて数値データを得ると共に、放射線障害の発生メカニズムや放射線に対する生体応答機構を遺伝子レベルで明らかにすることが必要である。遺伝子の突然変異や発がんなど、いわゆる確率的影響に関する研究は、今後ますます重要性が増してくるものと思われる。

トリチウムの生体影響研究者は世界的に少数である。日本では、かつて核融合特別推進研究の大規模なトリチウム生体影響研究班が組織され研究が行われていたが、研究組織の解体と同時に、トリチウム研究を継続する研究者は急激に減少した中での研究である。

研究成果の概要（英文）：The effect of low dose rate on carcinogenesis was examined by administering tritiated water to a carcinogenesis model mouse (ApcMin/+ mouse). 90 MBq of tritiated water was administered intraperitoneally, and the small intestine was estimated to be exposed to 2.4 Gy over 7 days. The results of tumor development showed that the number of tumors was significantly increased at 2.4 Gy compared to mice in the non-tritium water group, but no increase was observed at 1.2 Gy. Genomic DNA was extracted from tumor cells, and LOH analysis was performed using Mit marker on chromosome 18 to analyze the pattern of tritium-induced loss of function of cancer suppressor genes. No characteristic deletions were detected in mice in the tritiated water group compared to mice in the non-tritiated group.

研究分野：放射線生物学

キーワード：トリチウム 低線量率被ばく 発がん高感受性モデルマウス LOH解析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

低線量・低線量率放射線発がんのリスク評価は重要な課題であるが、100mSv 未満の被ばくリスクを評価することはほぼ不可能である。

マウス個体を使ったトリチウム曝露による発がん実験はこれまで行われてきたが、DNA レベルで突然変異の解析による発がん機構の解析は行われていない。トリチウム特異的な突然変異が生じるのか生じないのか、明らかになっていないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究は、発がん高感受性モデルマウス ($Apc^{Min/+}$ マウス) を用いてトリチウムによる低線量率ベータ線被ばくによる発がんの機構を明らかにするのが目的である。トリチウム被ばくの形態は、低線量・低線量率の内部被ばくが想定される。経口・吸入・皮膚吸収により体内に取り込まれたトリチウム水 (HT0) は、全身に均一に分布することから影響は小さくないと考えられる。現実的な低線量・低線量率トリチウム被ばくによる生体影響研究は、できる限り直接的に測定、評価する必要がある。よって、動物個体を用いた *in vivo* での突然変異や発がんなど確率的影響の解析が必要であるが、トリチウムによる発がん機構と遺伝子突然変異を調べた研究はこれまでにない。我々はトリチウムによる低線量被ばくあるいは低線量率での長期放射線被ばくによる発がん機構を、18 番染色体の突然変異を検出する事により、発がんに関与するトリチウム特有の変異が発生するのか明らかとする。

3. 研究の方法

本研究は、発がん高感受性モデルマウス ($Apc^{Min/+}$ マウス) を用いてトリチウムによる低線量率ベータ線被ばくによる小腸腫瘍から DNA を採取し、遺伝子変異解析を行い、発がん機構を解明することが目的である。以下のように研究を進めた。

- 1) B6- $Apc^{Min/+}$ マウスと C3H 野生型マウスの F1 マウス (小腸腫瘍の発生数が減少している) を準備し、トリチウム水曝露実験に供した。
- 2) 2 週齢の C3H/B6- $Apc^{Min/+}$ F1 マウスに、0.5Gy、1.0Gy 及び 2.0Gy の内部被ばくに相当する放射線のトリチウム水を腹腔内に投与した。
- 3) 25 週齢で、体重、脾臓の重量、リンパ球数、血小板数、ヘモグロビン値ならびに小腸・大腸の腫瘍数を調べた。
- 4) 腫瘍から一部の細胞を採取し、ゲノム DNA を抽出する。18 番染色体の複数の Mit マーカーに対する PCR プライマーで DNA フラグメントを増幅し、バイオアナライザーで LOH 解析を行った。トリチウムによるがん抑制遺伝子の機能消失パターンを解析した。
- 5) これらのデータを非照射マウスの結果と比較して、トリチウムに固有の突然変異が生じるかを調べる。

4. 研究成果

本研究では、発がん高感受性モデルマウス ($Apc^{Min/+}$ マウス) を用いて、トリチウムの発がんへの影響を調査することにある。トリチウムをトリチウム水として投与し低線量率でのベータ線内部被ばくが、発がんにどのように影響するのか解明を目指している。このモデルマウスは幼若期の放射線被ばくにより、高頻度で小腸に腫瘍が発生することが報告されている。

最初に標的臓器である小腸の被ばく線量を評価した。90MBqトリチウム水を含む生理食塩水500マイクロリットルを10匹のマウス夫々の腹腔内に接種し、2時間から最長30日まで飼育

した。屠殺後小腸を採取、800度で燃焼、そして燃焼水を回収しその濃度から計算により被ばく線量を求めた。その結果、90MBqのトリチウム水の腹腔内投与で、小腸は7日間で2.4Gyの被ばくと見積もられた。腫瘍の発生状況を調べた結果、2.4Gyでは腫瘍数が有意に増加したが、1.2Gyでは増加は見られなかった。

腫瘍の一部から採取した細胞を液体窒素で凍結した後、マイナス80度の冷凍庫で解析まで保存した。細胞からゲノムDNAを抽出し、18番染色体に存在する複数のMitマーカに対するPCRプライマーでDNAフラグメントを増幅した。バイオアナライザーでLOH解析を行いトリチウムによるがん抑制遺伝子の機能消失パターンを解析した。トリチウム水非投与群のマウスと比較して、トリチウム水投与群のマウスは、現在のところ特徴的な欠失は検出されていない。

2.4Gy相当のトリチウム水投与群と非投与群でマウスの体重に有意差はなかったが、トリチウム水投与群のマウスの脾臓重量が有意に増加した。屠殺直後のマウスの心臓から採血を行い、血球計数装置にてリンパ球数、血小板数、赤血球数およびヘモグロビン値を計測した。その結果、リンパ球数と血小板数には有意差はなかったが、赤血球数とヘモグロビン値がトリチウム水投与群で有意に低下していた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kohzaki Masaoki, Ootsuyama Akira, Abe Toshiaki, Tsukamoto Manabu, Umata Toshiyuki, Okazaki Ryuji	4. 巻 6
2. 論文標題 Long Bones Exhibit Adaptive Responses to Chronic Low Dose Rate Ionizing Radiation despite its Lifespan Shortening and Carcinogenic Effects on C57BL/6 Mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JBMR Plus	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbm4.10688	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 -
1. 著者名 Umata Toshiyuki	4. 巻 198
2. 論文標題 STUDY OF BIOLOGICAL EFFECTS OF TRITIUM IN MICE	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Radiation Protection Dosimetry	6. 最初と最後の頁 1071 ~ 1076
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/rpd/ncac055	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kohzaki Masaoki, Ootsuyama Akira, Umata Toshiyuki, Okazaki Ryuji	4. 巻 11
2. 論文標題 Comparison of the fertility of tumor suppressor gene-deficient C57BL/6 mouse strains reveals stable reproductive aging and novel pleiotropic gene	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12357-12369
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-91342-9	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 -
1. 著者名 馬田敏幸	4. 巻 63
2. 論文標題 トリチウムの保険物理の最前線—トリチウムの生体影響研究—	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本原子力学会誌ATOMO	6. 最初と最後の頁 723-727
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 馬田敏幸, 大津山彰
2. 発表標題 Analysis of tritium-induced gastrointestinal tumors in Min mouse
3. 学会等名 日本放射線影響学会第65回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 馬田敏幸、大津山彰、笹谷めぐみ
2. 発表標題 Minマウスを用いたトリチウム誘発 小腸がんの解析
3. 学会等名 日本放射線影響学会第64回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Toshiyuki Umata
2. 発表標題 A Study of the Biological Effects of Tritium in Mice
3. 学会等名 International Symposium on Environmental Dynamics of Radionuclides and Biological Effects of Low Dose-Rate Radiation (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Toshiyuki Umata, Akira Ootsuyama, Megumi Sasatani
2. 発表標題 Analysis of tritium-induced gastrointestinal tumor in Min mouse
3. 学会等名 The 94th Annual Meeting of the Japanese Biochemical Society
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 馬田 敏幸, 大津山 彰, 笹谷 めぐみ
2. 発表標題 発がん高感受性モデルマウスを用いたトリチウム誘発がんの解析
3. 学会等名 第33回 バイオメディカル・ファジイ・システム学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Toshiyuki Umata, Akira Ootsuyama, Megumi Sasatani
2. 発表標題 Analysis of tritium-induced gastrointestinal tumor in Min mouse
3. 学会等名 日本放射線影響学会第63回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 馬田敏幸
2. 発表標題 遺伝子改変マウスを用いた トリチウムの生体影響研究
3. 学会等名 日本原子力学会 2021年春の年会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 馬田敏幸、大津山彰、笹谷めぐみ
2. 発表標題 Minマウスを用いたトリチウム誘発消化管腫瘍の解析
3. 学会等名 日本放射線影響学会第66回大会
4. 発表年 2023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	大津山 彰 (Ootsuyama Akira) (10194218)	産業医科大学・医学部・准教授 (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
---------	---------