

令和元年5月28日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K19804

研究課題名(和文)放射線被ばくによる染色体異常の経年変化の解明および低線量域の線量評価法の確立

研究課題名(英文)Elucidation of time course of chromosomal aberration by radiation exposure and construction of dose-response curve for low-dose radiation

研究代表者

阿部 悠(Abe, Yu)

福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：00722472

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、複数回のCT検査前後の末梢血リンパ球の二動原体染色体(Dic)および染色体転座頻度について解析するとともに、100 mGy以下に焦点を当てた低線量被ばく用線量応答曲線を作成した。

少なくとも1年間隔のCT検査による被ばくでは、染色体異常の有意な蓄積は認められず、発がんへの寄与は小さいものと考えられる。また、解析細胞数を増やすことで低線量被ばくの評価が可能であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではCT検査を受診した患者の生体試料を用いて、1回のCT検査による被ばくでDNA損傷が誘導されるものの約1年のインターバルを挟むとDic、転座ともに染色体異常頻度の明確な蓄積は認められないことを明らかにした。これは疾患との関連性、特に発がんに寄与する割合は低いものと考えられる。また、通常の倍に当たる2,000細胞を解析することで100 mGy以下の低線量被ばくの影響も評価可能であることが示唆された。しかし、研究開始以前の段階で染色体転座の蓄積が認められ、低線量被ばくの影響が観察できなかった可能性が考えられるため、より詳細な解析には健常者の染色体異常の自然発生頻度について調査が必要である。

研究成果の概要(英文)：In this study, we analyzed the dicentric chromosome and translocation frequency of peripheral blood lymphocytes before and after multiple CT examinations and constructed the dose response curve for low dose exposure focusing on 100 mGy or less.

There was no significant accumulation of chromosomal abnormalities in exposure to CT examinations at least once a year. Therefore, contribution to carcinogenesis by CT examination is considered to be small. In addition, it was suggested that the assessment of low dose exposure is possible by increasing the number of analyzed cells.

研究分野：細胞遺伝学的線量評価

キーワード：細胞遺伝学的線量評価 低線量被ばく CT 染色体異常

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

低線量被ばくに関する報告は年々増加しており、最近では大規模な疫学研究によって、1回の照射線量が数m~十数mGyとされるCTスキャンによって生涯のがんリスクが上がる可能性が示唆されていた(Pearce MS, Lancet. 2012; Mathews JD, BMJ. 2013)。しかしこれらの報告は疫学研究であり、生体試料の計測による実験結果ではないため、細胞や分子レベルでの影響については不明なままである。

染色体異常解析は、生物学的線量評価法の一つであり、中でも二動原体染色体(Dicentric chromosome)解析による線量評価は”Gold standard”と言われている。通常は100 mGy以上が適応範囲とされているが(IAEA, 2011)、低線量被ばく評価に用いることも可能とする報告があり(Radiat Res, 2011; Health Phys, 2013)、100 mGy未満の低線量被ばくにおいても染色体異常を指標にした線量評価が可能であることが示唆されている。

### 2. 研究の目的

本研究では、Dicおよび転座を指標とした染色体異常解析を用いてCT検査による被ばく影響について明らかにすることを目的とする。また、100 mGy以下の低線量を中心としたDicおよび転座解析による線量評価に必要な線量応答曲線を作成し、低線量被ばくのモニター方法の確立を目的とする。

### 3. 研究の方法

- (1) 定期的にCT検査を受診する患者(1回/年)でインフォームドコンセントを得られた方を対象に、CT検査前後で採血をし、リンパ球を含む単核球成分を分離した後、PHA刺激およびコルセミド添加した状態で48時間培養した。培養終了後は低張・固定処理後に染色体標本を作成し、ギムザ染色およびFISH法後、分裂中期像を撮影し、Dicおよび転座頻度を解析した。なお、通常の線量評価の下限とされる100mGy以下の被ばく線量が予想されるため、解析細胞数は通常の倍に当たる2,000細胞以上とした。染色体転座は3色FISH法を用いるため、補正式を用いて解析細胞数当りの転座頻度を算出した(EPR-biodosimetry, IAEA, 2011.)。
- (2) インフォームドコンセントの得られた健常ボランティア5名(男性:23, 35, 44, 55歳, 女性:33歳)から採血を行い、線量を8線量(0,)照射後(Gamma cell 40, Best Theratronics, Ottawa, Ontario, Canada.)、室温で60分放置した後、リンパ球を含む単核球成分を分離した後、PHA刺激下で48時間培養した。培養終了2時間前にコルセミドを添加した。培養終了後は低張・固定処理後に染色体標本を作成し、ギムザ染色およびFISH法後、分裂中期像を撮影し、Dicおよび転座頻度を通常の線量評価の倍に当たる2,000細胞解析した。染色体転座は3色FISH法を用いるため、補正式を用いて解析細胞数当りの転座頻度を算出した(EPR-biodosimetry, IAEA, 2011.)。

### 4. 研究成果

同意が得られた12名のCT検査前後での染色体異常頻度(Dic, 転座)を比較したところ、DicではCT検査後に有意な増加が認められたが、転座では認められなかった(図1)。また、過去に化学療法または放射線治療のどちらかあるいは両方を受けたことがある集団(6名)と治療歴のない集団(6名)を比較した結果、有意差は認められなかった。この件については解析検体数を増やす必要がある。

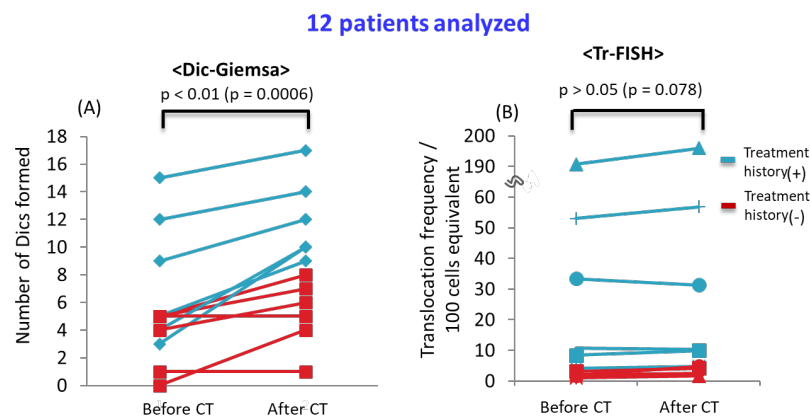


図1: CT検査前後における染色体異常頻度の変化  
(左: Dic, 右: 転座, 青: 化学療法または放射線治療歴あり, 赤: 治療歴なし)

続いて、前述の集団とは異なる 8 名の患者の末梢血を用いて、連続した CT 検査による被ばくの影響について染色体異常頻度の解析を行った。1 回の CT 検査前後の比較では、前述の結果同様、Dic は有意な増加が認められたが、転座では認められなかった。各 CT 検査から約 1 年のインターバルを経過した後の染色体異常頻度の比較では、Dic、転座ともに有意な蓄積性的変化は認められなかった(図 2 および図 3)。

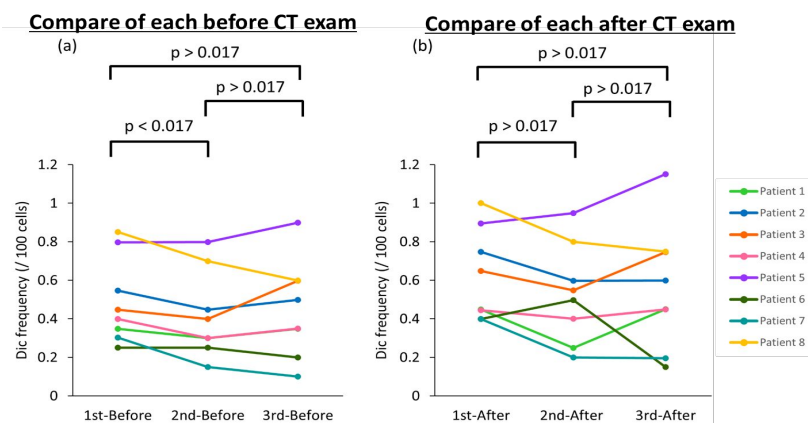


図 2：各 CT 検査前および検査後の Dic 頻度の比較 (Bonferroni's method にて検定)

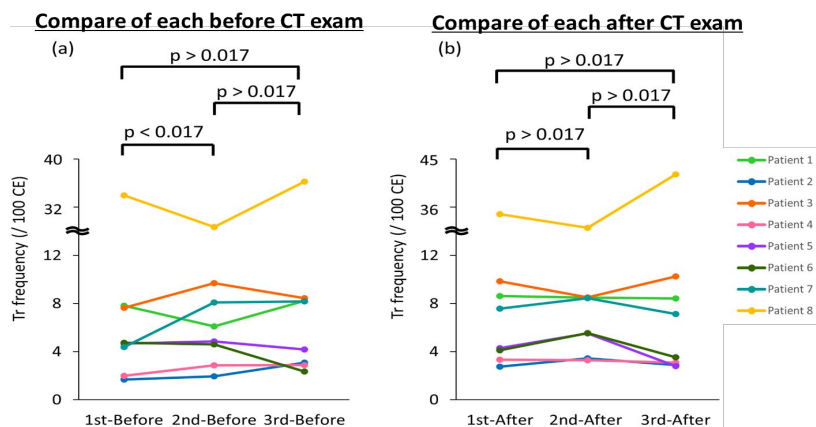


図 3：各 CT 検査前および検査後の転座頻度の比較 (Bonferroni's method にて検定)

また、全ての患者の Dic および転座頻度を比較すると、Dic よりも転座頻度が圧倒的に多く、CT 検査前の時点でもある程度の蓄積が認められた(図 4)。1 回の CT 検査前後の比較では Dic の増加が認められることから、CT 検査による被ばくで DNA 損傷が誘導されている可能性が示唆されたが、Dic および転座ともに 1 年に 1 度の検査程度の被ばくでは、染色体異常頻度の有意な蓄積は認められず、疾患への結びつきは低いものと考えられる。

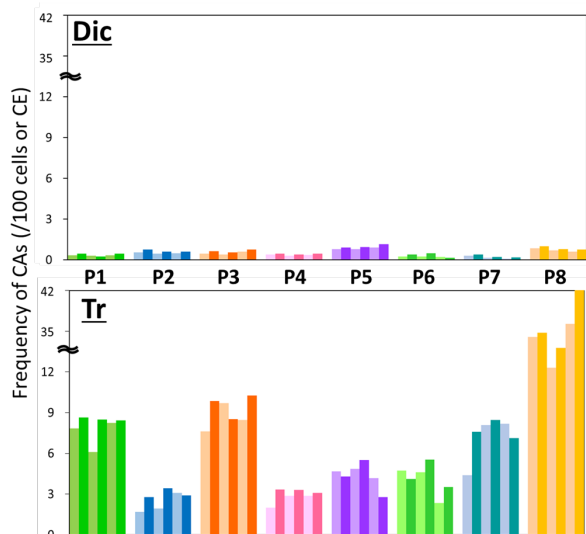


図4：各患者のCT検査前後での染色体異常頻度の比較  
 (上：Dic, 下：転座, 薄色がCT検査前, 濃色がCT検査後を示し,  
 左から順に1回目, 2回目, 3回目を示す)

次に, 5名の健常ボランティアの末梢血に8線量の線照射, Dicおよび転座頻度解析結果から線量応答曲線を作成した(図5)。線量応答曲線の作成には5名分の解析結果を集積したものをを用いた。Dic:  $Y=0.0013(\pm 0.0005) + 0.0067(\pm 0.0071) \times D + 0.0313(\pm 0.0091) \times D^2$  ( $R^2=0.9985$ )。Tr:  $Y=0.0053(\pm 0.0009) + 0.0259(\pm 0.0127) \times D + 0.0826(\pm 0.0161) \times D^2$  ( $R^2=0.9995$ )と, どちらも線量と染色体異常頻度の間に良い相関が認められ, 50 mGy程度までは線量評価が可能であることが示唆された。転座に関しては, CT被ばく影響の研究同様, 各ボランティアで照射以前の蓄積が認められた。染色体転座は加齢の影響が知られていることから, Sigurdsonらのデータ(Mutat Res, 2008.)を参考に年齢調整を行った結果, ほぼ原点を通る線量応答曲線を作成することが出来た。

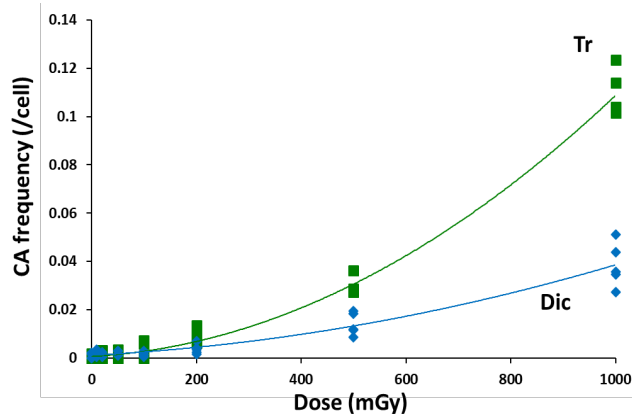


図5：5名分の染色体異常頻度解析結果から作成した低線量用線量応答曲線  
 (青：Dic, 緑：転座の線量応答曲線を示す)

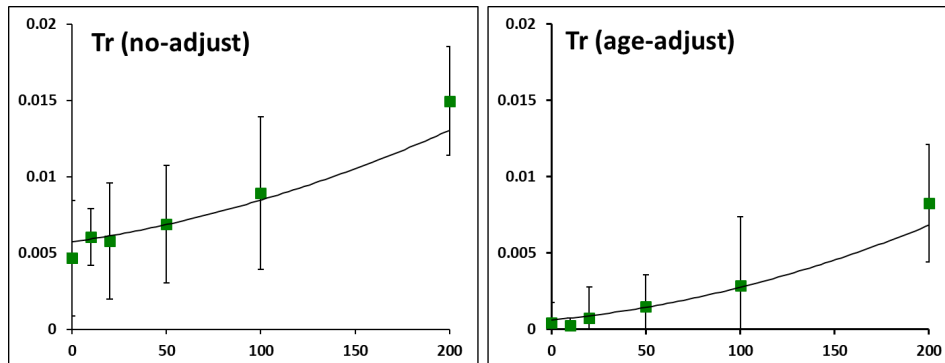


図6：年齢調整による転座の低線量用線量応答曲線変化  
 (左：年齢調整前, 右：年齢調整後, A.J. Sigurdson et al. Mutat Res. 2008.を参照)

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 5件, 全て査読有)

- (1) Jang S, Suto Y, Abe Y, (他 8名, 8番目). CAPABILITIES OF THE ARADOS-WG03 REGIONAL NETWORK FOR LARGE-SCALE RADIOLOGICAL AND NUCLEAR EMERGENCY SITUATIONS IN AISA. Radiat Prot Dosimetry. 2018 Dec 20. doi: 10.1093/rpd/ncy279.
- (2) Abe Y, Yoshida MA, Fujioka K, (他 8名, 1番目). Dose-response curves for analyzing of dicentric chromosomes and chromosome translocation following doses of 1,000 mGy or less based on irradiated peripheral blood samples from 5 healthy individuals. J Radiat Res. 2018 Jan 1;59(1):35-42. doi: 10.1093/jrr/rrx052.
- (3) Kawamura F, Inaki M, Abe Y, (他 15名, 4番目). Establishment of induced pluripotent stem cells from normal B cells and inducing AID expression in their differentiation into hematopoietic progenitor cells. Sci Rep. 2017 May 10;7(1):1659. doi: 10.1038/s41598-017-01627-1.
- (4) Abe Y, Miura T, Yoshida MA, (他 20名, 1番目). Analysis of chromosome translocation

frequency after a single CT scan in adults. J Radiat Res. 2016 Jun;57(3):220-6. doi: 10.1093/jrr/rrv090. Epub 2016 Feb 13.

- (5) Abe Y, Miura T, Yoshida MA, (他 19 名, 1 番目). Sci Rep. 2015 Sep 9;5:13882. doi: 10.1038/srep13882.

[学会発表](計 17 件)

- (1) Yu Abe, Hideyoshi Noji, Misaki Sugai, (他 10 名, 1 番目). Analysis of the number of chromosome aberrations induced by three consecutive CT examinations. The 3rd International Symposium of the Network-type Joint Usage/Research Center for Radiation Disaster Medical Science -Cooperative wisdom among communities for disaster preparedness and response-. 13-14 Jan 2019. Fukushima, Japan. (poster). **[Young Scientist Poster Awards]**
- (2) Yanagi A, Tsuyama N, Abe Y, (他 11 名, 4 番目). Attempt to prove the existence of abnormal B lymphocyte as myeloma-initiating cells from B cell-derived induced pluripotent stem cells. 60th ASH Annual Meeting. San Diego, USA. 1-4 Dec 2018. (poster).
- (3) Yu Abe, Hideyoshi Noji, Misaki Sugai, (他 10 名, 1 番目). Analysis of the number of chromosome aberrations induced by three consecutive CT examinations. 日本放射線影響学会第 61 回大会. 長崎県長崎市. 2018 年 11 月 7-9 日 (口頭発表). **[61th The Japanese Radiation Research Society Excellent Research Presentation Award]**
- (4) 津山尚宏, 阿部 悠, 柳亜紀, 菅井美咲, 坂井晃. CRISPR/Cas9 を用いた t(11; 14) 染色体転座誘発. 第 61 回日本放射線影響学会. 日本放射線影響学会第 61 回大会. 長崎県長崎市. 2018 年 11 月 7-9 日. (poster).
- (5) 柳 亜希, 津山尚宏, 阿部 悠, (他 10 名, 4 番目). Attempt to make abnormal B lymphocytes as myeloma-initiating cells from iPSCs. 第 80 回日本血液学会学術集会. 大阪府大阪市. 2018 年 10 月 12-14 日. (poster).
- (6) Yu Abe, Mitsuaki A Yoshida, (他 9 名, 1 番目). Construction of dose response curves for cytogenetic biodosimetry in the low dose range based on five persons. EPRBioDose2018, Munich, Germany. 11-15 June 2018. (poster). **[IABERD poster Awards]**
- (7) Yu Abe, Hideyoshi Noji, Misaki Sugai, (他 10 名, 1 番目). Investigation of cumulative number of chromosome aberrations due to three consecutive CT scans. American Association for Cancer Research (AACR) Annual Meeting. Chicago, Illinois, USA. 14-18 April. 2018. (poster)
- (8) Yanagai A, Kawamura F, Abe Y, (他 16 名, 5 番目). B cell-derived induced pluripotent stem cells are useful for determining the cellular origin of abnormal B cells in multiple myeloma. ASH Annual Meeting. Atlanta, USA, 9-12 Dec 2017. (poster).
- (9) 阿部 悠, 三浦富智, 吉田光明, 黒須由美子, 菅井美咲, 稲葉俊哉, 神谷研二, 坂井晃. 染色体解析による線量評価のオートメーション化 現在の到達点と残る課題. Symposium: 生物学的線量評価法の現状と今後の課題. 日本放射線影響学会第 60 回大会. 千葉県千葉市. 2017 年 10 月 25-28 日.
- (10) 阿部 悠, 菅井美咲, 黒須由美子, (他 9 名, 1 番目). 継続的な CT 検査による染色体異常形成数の累積性の検討. 日本放射線影響学会第 60 回大会. 千葉県千葉市. 2017 年 10 月 25-28 日. (poster).
- (11) Yanagi A, Inaki M, Abe Y, (他 15 名, 5 番目). Establishment of iPSC cells from normal B cells and AID expression in hematopoietic progenitor cells. 第 79 回日本血液学会学術集会. 東京. 2017 年 10 月 20-22 日. (poster)
- (12) 藤嶋洋平, 三浦富智, 阿部悠, (他 10 名, 7 番目). 放射線汚染地域に生息する中型野生動物の染色体解析. 第 4 回福島第一原発事故による周辺生物への影響に関する研究会. 千葉県成田市 2017 年 8 月. (口頭発表).
- (13) Kawamura F, Inaki M, Abe Y, (他 15 名, 4 番目). Establishment of iPSCs from B lymphocytes and AID Expression in their Hematopoietic Stem Cells. 第 16 回日本再生医療学会総会. 宮城県仙台市. 2017 年 3 月 7-9 日.
- (14) 阿部 悠, 三浦富智, 吉田光明, (他 9 名, 1 番目). 低線量 線照射による細胞遺伝学的線量評価用線量応答曲線の作製. 第 59 回日本放射線影響学会 広島県広島市 2016 年 10 月 26-28 日. (口頭発表).
- (15) 氏家里紗, 藤嶋洋平, 阿部 悠, 中田章史, 葛西宏介, 三浦富智, 津山尚宏, 有吉健太郎, 吉田光明, 坂井 晃. 未成熟(早期)凝縮染色体法と FISH 法を併用した二動原体染色体線量推定法の検討. 第 59 回日本放射線影響学会 広島県広島市 2016 年 10 月 26-28 日. (poster).
- (16) Abe Y, Miura T, Yoshida M, (他 19 名, 1 番目). Analysis of chromosome translocation frequency after a single CT scan in adults. EPRBioDose2015. Hanover, New Hampshire, USA. 4-8 Oct 2015. (poster).

(17) Abe Y, Miura T, Yoshida M, (他 18 名, 1 番目). Analyses of dicentric chromosome formation and chromosomal translocation after a single CT scan in adults. 15th International Congress of Radiation Research. Kyoto, Japan. 25-29 May 2015. (poster).

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<https://www.fmu.ac.jp/cms/rls/index.html>