

令和 5 年 5 月 23 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K07725

研究課題名(和文) 直線閾値なし(linear-no-threshold)仮説の放射線生物学的検証

研究課題名(英文) Radiobiological evaluation of linear-no-threshold hypothesis

研究代表者

芝本 雄太(Shibamoto, Yuta)

大阪大学・大学院医学系研究科・招へい教授

研究者番号：20144719

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：放射線被曝の生体に対する影響に関する直線閾値なし仮説が妥当なものを検証するために、200mGy以下の低線量放射線被曝が培養細胞、蚕の幼虫、幼若マウスに及ぼす影響を検討した。またDNA損傷を示すH2AXの低線量放射線照射後の経時的变化を培養細胞において検討した。低線量放射線照射によって、培養細胞の適応応答反応、蚕の幼虫の成長促進、マウスにおける腫瘍生着の遅延が認められた。またH2AXが照射後24時間で元に戻り、DNA修復が残らないことが示された。これらの実験結果は、いずれも低線量の放射線被曝が有害な作用を示さないことを意味しており、直線閾値なし仮説が間違っていることを示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

直線閾値なし仮説に基づくと、放射線被曝はたとえ微量であっても生体に対して発癌などを含め何らかの悪影響があるとされている。しかし近年はこれとは反対に、微量で適量の放射線は生体に刺激を与えて好影響を及ぼすという研究成果が増えつつある。我々の研究成果は直線閾値なし仮説を否定するものであり、微量の放射線被曝によって生物が様々な点において活性化されうることを示している。これらの研究成果が、国民の放射線に対する認識を変えることに繋がり、放射線アレルギーを無くするために役立つことを期待している。また低線量の放射線被曝が生体の活性化に利用できるようになるきっかけとなることを期待している。

研究成果の概要(英文)：To investigate whether the linear-no-threshold hypothesis is acceptable or not, changes in cultured cells, silkworm larvae, and young mice were investigated after continuous low-dose irradiation. In addition, changes in H2AX index over time were investigated after low- and high-dose irradiation. Continuously-irradiated cultured cells showed radioadaptive responses, and irradiated silkworm larvae showed accelerated growth. In irradiated young mice, transplanted tumor cells developed into solid tumors later as compared to those in non-irradiated mice. The H2AX index increased soon after both low- and high-dose irradiation, but returned to the pre-irradiation level within 24 hours. The H2AX indices at 2 hours after irradiation were most closely correlated with cell surviving fractions. These results indicated that low-dose irradiation had no harmful effects on the living organisms, and the linear-no-threshold hypothesis seemed to be invalid.

研究分野：放射線腫瘍学・生物学

キーワード：低線量放射線 直線閾値なし仮説 放射線適応応答

1. 研究開始当初の背景

福島原発事故や近年の医療被曝の増加を背景に、放射線被曝に対する国民の意識と関心が高まっている。ほとんどの国民は、たとえ低線量であっても放射線被曝には発癌などの害があり、できるだけ被曝を避けたり被曝線量を減らすよう努力すべきであると認識している。こういった考えに基づいて、福島原発事故周辺地域では、一部の研究者からは「不要・税金の無駄遣い」と指摘されている長期にわたる避難や除染などが、莫大な国家予算を使って行われており、また放射線医学の分野では、多大な研究費を使って可及的に画質を落とさずに被曝線量を下げる研究が盛んに行なわれている。このような動向は、放射線被曝の線量と放射線障害の関係が、低線量から高線量に至るまで直線関係にあるという linear-no-threshold(LNT)仮説で表されるとする考えに基づいている。

しかし、近年この LNT 仮説は不適切ではないかという研究結果が増加してきている。人間において、200mSv を越える被曝線量域では、線量と発癌の関係はほぼ直線であると考えられるが、それ以下の線量域では、直線関係にあるのか否かについてはまだ解明されていない。被曝と障害の関係を推定するための世界で最も大きな対象集団が、広島・長崎の原爆被曝者であるが、200mSv 以下の被曝者における発癌の増加の有無に関しては様々なデータが存在する。それに加えて最近、これらの 12 万人に上るデータでは、低線量被曝線量域で発癌率が上昇するか否かについての検証は、統計学的な見地から不可能である、と結論された(12 万人では統計学的に不十分な数である)。したがって、疫学データから、低線量域における発癌率の増加について科学的に結論することは、今後も不可能ではないかと考えられる。

原爆被曝者以外でも、疫学データの解析には様々なバイアスがかかり、研究者の主観も影響しうる。一方、コントロールされた基礎研究ならば、低線量放射線の影響を客観的かつ科学的に検討することができると考えられ、近年、この領域における様々な基礎研究が推奨され、行われるようになってきた。当課題研究もその一つであるが、当研究の「学術的問い」は、「LNT 仮説は正しいか?」ということである。この問いについて、十分にデザインした基礎研究によって、幾つかの回答を得ることを研究の目的とした。

2. 研究の目的

放射線量と放射線による影響の関係が全線量域で直線状になるのかについて、幾つかの実験系を用いて、系統的に検証を行うことを目的とした。

(1) In vivo の実験では、蚕の幼虫の成長促進における至適線量、蚕の成長における低線量率持続被曝と X 線単回照射の違い、蚕の成長における被曝の二相性の反応、マウスの低線量率持続被曝による成長促進、と低線量率持続被曝したマウスにおける腫瘍細胞生着の抑制を検証することを目的とした。

(2) 培養細胞を用いた実験では、研究協力者らが独自に開発し、放射性同位元素を含有し低線量放射線を持続的に放出するシートが、培養細胞の増殖、コロニー形成能、放射線感受性に及ぼす影響について検討することを目的とした。

(3) 培養がん細胞を用いた DNA 損傷修復の評価においては、低線量放射線照射の影響について、H2AX を指標として検討することを目的とした。ヒトにおいて CT などの放射線検査後の DNA 損傷を評価する場合、どのタイミングで採血を行うのが適しているかを念頭において、3 種類のヒト・哺乳類腫瘍細胞を用いて最適な H2AX 定量のタイミングを検討した。

3. 研究の方法

(1) 低線量の放射線を持続的に放出するシートを用いて実験を行った。このシートからは、 α 線及び β 線が放出されると考えられるが、 β 線のスペクトラムからアクチニウム 228 と臭素 77 を含有するものと考えられた。線量率はシートの重ねあわせ方によって数種類を用いることができるが、 β 線及び α 線をガイガーカウンターで測定した場合、40~131 μ Sv/hr、 β 線の

みをサーベイメーターで測定した場合は、1.7~22.4 μ Sv/hr の範囲であった。このシート上に蚕の卵を置き、孵化させ、孵化からおよそ14日後から週3回の体重測定を行った。蚕におけるX線単回照射では、0.1、0.6、3.6、20、50Gyの線量を用い、同様に体重測定を行った。

また同様のシート上でBa1b/c マウスを3週齢から飼育し、体重を経時的に測定した。次に同様に飼育したマウス10週齢でEMT6細胞約1000個を両側大腿部皮下に移植し、腫瘍生着率を観察した。

(2) ヒト唾液腺(HSG)腫瘍細胞を用いて、低線量放射線持続被曝が細胞増殖率、コロニー形成率、コロニー試験による放射線感受性およびH2AXを指標とするDNA二本鎖切断修復に及ぼす影響を検討した。ヒト唾液腺細胞を、超低線量(4.3 mSv/h)または低線量(27 mSv/h)放射線放出シート上または放射性物質を含まないアクリル板上で培養した。実験1と2では、3群の細胞増殖率(総細胞数)とコロニー形成率を、培養開始後6週間、1または2週間おきに比較した。実験3では、超低線量と低線量シート上で培養したHSG細胞の2~8Gy照射後の生存率を、2、4、6週目に対照群と比較した。実験4では、培養開始4週間後、2 Gy照射したHSG細胞に免疫染色を行い、H2AXの経時的变化を観察し分析した。

(3) HeLa S3、EMT6、B16F0細胞に対して10、50、150、500、2000、4000mGyのX線照射後、それぞれ15分、2、6、12、24時間後にH2AX免疫染色を行い、蛍光顕微鏡下に1核当たりのH2AX foci数と蛍光量を測定した。またコロニー形成試験より細胞生存率を求め、H2AX相対値との相関関係を求めた。相関の強さはピアソンの相関係数から得られたR2値を用い、低線領域(10~500mGy)、高線領域(500~4000mGy)に層別化して評価した。

4. 研究成果

(1) 蚕の卵を低線量率放射線放出シート上に置いて飼育を続けると、2種類の低線量率シートの群(線線量13.4と22.4 μ Sv/hの群)でコントロール群との間に有意の体重増加効果が見られた($P < .001$)。X線単回照射の実験では、50Gy照射群で他の群と比較して著明な成長遅滞を認めた。低線量率放射線放出シート上でBa1b/c マウスを3週齢から飼育し、体重を経時的に測定したが、コントロール群との間に差が見られなかった。次にEMT6細胞を大腿部皮下に移植し、腫瘍生着率を観察したところ、両群間に有意差は認められなかったが、コントロール群に比べて腫瘍の生着が延長する傾向が見られた。

(2) 超低線量または低線量シートを使用した場合と使用しない場合では、細胞増殖率とコロニー形成率に有意差はなかった。超低線量シート群の培養開始後2~6週間と低線量シート群の2~4週間の時点での照射後の細胞生存率は、すべて対照群より高かった($P < 0.01$)。したがって放射線適応応答が観察された。実験4では、照射後1および6時間では、DNA二本鎖切断は低線量シート群のほうが非照射対照群より有意に多く見られた。しかし照射後24時間では、照射前に比べて、低線量シート群において有意にDNA二本鎖切断が少なかった。

(3) DNA損傷修復の検討においては、照射後H2AXの発現は15分後に高かったが、その後経時的に減少し、24時間後にはほぼ元のレベルに戻った。H2AX foci数は、高および低線量域のいずれにおいても、照射12時間後のみ細胞生存率と有意に相関した($R^2=0.68$ および 0.37)。一方、H2AX蛍光量で見ると、高線量域では15分~12時間後、低線量域では2~12時間後に細胞生存率と有意に相関し、高線量域では2時間後($R^2=0.89$)、低線量域では12時間後においてR2値は最大であった。

直線閾値なし仮説に基づくと、放射線被曝はたとえ微量であっても生体に対して発癌などを含め何らかの悪影響があるとされている。しかし近年はこれとは反対に、微量で適量の放射線は生体に刺激を与えて好影響を及ぼすという研究成果が増えつつある。我々の研究成果は直線閾値なし仮説を否定するものであり、微量の放射線被曝によって生物が様々な点において活性化されうることを示している。これらの研究成果が、国民の放射線に対する認識を変えることに繋がり、放射線アレルギーを無くするために役立つことを期待している。また低線量の放射線被曝が生体の活性化に利用できるようになるきっかけとなることを期待している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Shibata S, Shibamoto Y, Maehara M, Hobo A, Hotta N, Ozawa Y	4. 巻 18
2. 論文標題 Reasons for undergoing CT during childhood: Can CT-exposed and CT-naive populations be compared?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dose-Response	6. 最初と最後の頁 1-4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/1559325820907011	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 Wang Z, Sugie C, Nakashima M, Kondo T, Iwata H, Tsuchiya T, Shibamoto Y	4. 巻 17
2. 論文標題 Changes in the proliferation rate, clonogenicity, and radiosensitivity of cultured cells during and after continuous low-dose-rate irradiation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Dose-Response	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/1559325819842733	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 Shibamoto Y, Nakamura H	4. 巻 19
2. 論文標題 Overview of biological, epidemiological, and clinical evidence of radiation hormesis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2387
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms19082387.	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 Nakashima M, Sugie C, Wang Z, Kondo T, Manabe Y, Murai T, Shibamoto Y	4. 巻 16
2. 論文標題 Biological Effects of Continuous Low-Dose-Rate Irradiation in Silkworms and Mice: Growth Promotion and Tumor Transplantability	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Dose Response	6. 最初と最後の頁 15593258
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/1559325818811753	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 Takano S, Shibamoto Y, Wang Z, Kondo T, Hashimoto S, Kawai T, Hiwatashi A.	4. 巻 64
2. 論文標題 Optimal timing of a H2AX analysis to predict cellular lethal damage in cultured tumor cell lines after exposure to diagnostic and therapeutic radiation doses	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Radiation Research	6. 最初と最後の頁 317-327
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jrr/rrac096	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7件(うち招待講演 2件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 中島雅大、王禎、杉江愛生、近藤拓人、眞鍋良彦、村井太郎、岩田宏満、芝本雄太
2. 発表標題 低線量放射線放出シートによる蚕の成長促進と培養細胞の適応応答反応
3. 学会等名 第57回日本放射線腫瘍学会生物部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 芝本雄太
2. 発表標題 低線量放射線の生物学的影響 - 最近の知見
3. 学会等名 第55回日本医学放射線学会秋季臨床大会シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masahiro Nakashima, Yuta Shibamoto 他
2. 発表標題 Biological effects of continuous low-dose-rate irradiation in silkworms and mice: growth promotion and tumor transplantability
3. 学会等名 The 9th Annual Meeting of the International Society of Radiation Neurobiology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Zhen Wang, Yuta Shibamoto 他
2. 発表標題 Changes in the proliferation rate, clonogenicity, and radiosensitivity of cultured cells during and after continuous low-dose-rate irradiation
3. 学会等名 The 9th Annual Meeting of the International Society of Radiation Neurobiology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 芝本雄太
2. 発表標題 低線量放射線の生体への影響 -最近の知見-
3. 学会等名 第17回中部放射線治療研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高野聖矢、王禎、近藤拓人、橋本眞吾、河合辰哉、樋渡昭雄、芝本雄太
2. 発表標題 放射線照射後のDNA二重鎖切断の定量タイミングが細胞生存率予測に及ぼす影響
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会第35回学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 芝本雄太
2. 発表標題 放射線ホルミシス -少量の放射線被曝は体に良い?-
3. 学会等名 第21回山梨医学フォーラム (招待講演)
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	杉江 愛生 (Sugie Chikao) (80509258)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・研究員 (23903)	
研究 分担者	岩田 宏満 (Iwata Hiromitsu) (40611588)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・准教授 (23903)	

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
---------	---------