

令和 6 年 9 月 6 日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K12336

研究課題名(和文)異なる種類の放射線に被ばくをすると発がんにどのような影響をもたらすか？

研究課題名(英文)What are the effects of different radiation qualities on carcinogenesis?

研究代表者

鶴岡 千鶴 (Tsuruoka, Chizuru)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学研究所 放射線影響予防研究部・主任研究員

研究者番号：60415411

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)：被ばくによる晩発影響では発がんが重要であり、放射線の線質ごとに発がんリスク評価を行う必要がある。我々は放射線発がんモデルのPtch1遺伝子ヘテロ欠損マウスを用いガンマ線、速中性子線、炭素線誘発がんの特徴を調べた。肝、肺、脾、皮膚、筋などの臓器に腫瘍の発症を認め、特に肝、脾、皮膚、筋は放射線により増加傾向を示したが、線質には依存していないことを明らかにした。皮膚腫瘍について病理診断をした結果、基底細胞がんであった。炭素線と速中性子線では斑状強皮/硬化型と微小結節型の傾向が高く、線質によっては予後の悪い組織型を発症することが示唆された。しかし分子学的解析からは放射線特異的な特徴は観察されなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

放射線の線質が異なると生物効果は異なり、それら放射線の発がんリスクを正確に評価することは必須である。被ばくによる疫学研究にはさまざまな不確実性があり、さらに多様な種類の放射線による知見を得ることは困難である。そのため、動物実験を用いてさまざまな放射線の発がんリスク、臓器依存性、メカニズムの解明することは、将来的に被ばくをした時の発がん予測に役立つとともに、発がん予防法開発に貢献できる基礎データとなりうる。

研究成果の概要(英文)：Carcinogenesis is important when considering the late effects of radiation exposure. It is also essential to evaluate the risk of carcinogenesis for each radiation quality. We investigated the characteristics of gamma-rays-, neutron-, and carbon-ion-induced cancers in Ptch1 heterozygous mice, a mouse model of radiation carcinogenesis. We observed that tumors developed in organs such as the liver, lung, spleen, skin, and muscle. Although the tumors of the liver, spleen, skin, and muscle were increased after irradiation, the radiation qualities were independent of the organ of carcinogenesis. Pathological diagnosis of the skin tumors revealed that they were basal cell carcinomas. The morpheaform/sclerosing and micronodular types of basal cell carcinomas tended to increase after carbon-ion and neutron exposure, suggesting that some radiation qualities can cause poor prognosis. However, the radiation-specific characteristics were not observed in the molecular analysis.

研究分野：放射線生物

キーワード：放射線発がん 線質の違い 基底細胞がん

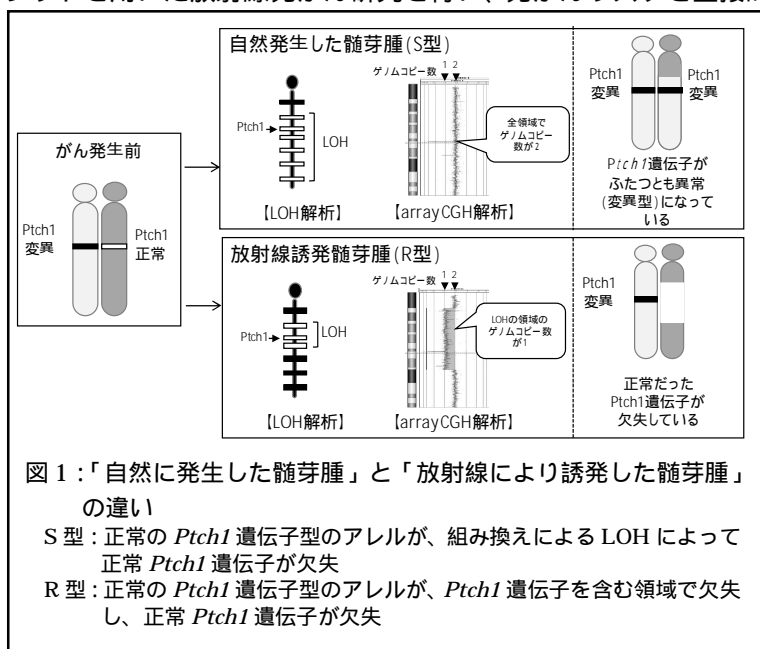
1. 研究開始当初の背景

人は医療、宇宙滞在、原子力災害などで放射線に被ばくをする可能性があり、その放射線の線質(種類)は電磁波や粒子線など多様である。被ばく後の晩発影響で「発がん」は最も重要であり、生物効果が異なる放射線ごとの発がんリスク評価を行うことは必須である。疫学研究では、原爆被爆者、チヨルノービリ原発事故などがあるが、線量評価やバイアスなどさまざまな不確実性があるほか、疫学では多様な種類の放射線による知見を得ることはできない。そのため、疫学研究調査と並行して動物実験にてさまざまな種類の放射線における発がんリスク評価を行うことは極めて意味がある。

我々は、これまでにマウス・ラットを用いた放射線発がん研究を行い、発がんリスクを直接的

に評価してきた。また、放射線誘発がん特異的な分子学的特徴(「放射線シグネチャー」と呼んでいる)を見だし、これを用いて精度よく放射線発がんリスク評価を行うことができることを示してきた(図1)(Ishida et al., Carcinogenesis. 2010, Tsuruoka et al., Radiation Research, 2016)。

自然に発生した髄芽腫(小脳腫瘍)のゲノム変異パターンを S 型(Spontaneous-type)、放射線に起因するものを R 型(Radiation-induced type)と呼んでいる。しかしながら、この知見が臓器、放射線の種類が異なっても一般化できるか否かは不明である。



2. 研究の目的

放射線の線質(種類)が異なると生物効果は異なり、それら放射線の発がんリスクを正確に評価することは必須である。我々は背景に示したモデルマウス(髄芽腫のゲノム変異パターンから放射線に起因する髄芽腫を区別できるマウス)を用いて、放射線の線質が異なると、発がんリスクはどのように異なるのか? 発生する「がん」の種類(発生臓器)は異なるのか? 発がんメカニズムの違いは何か? について明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

図1の特徴をもつ *Ptch1* 遺伝子ヘテロ欠損マウスを用いた。このモデルマウスは、小脳の発生期にあたる放射線の感受性が高い時期(出生前後)に放射線を照射すると高頻度で髄芽腫を発症する(Ishida et al., Carcinogenesis. 2010, Tsuruoka et al., Radiation Research, 2016, Tsuruoka et al., Radiation Research, 2021)。そのため、小脳への放射線感受性時期が終了した生後10日齢(Pazzaglia et al., Oncogene, 2006)に放射線を照射した。放射線は、ガンマ線(¹³⁷Cs)、速中性子線(平均エネルギー約2 MeV)、炭素線(C290 MeV/u, LET: 13 keV/μm)を用い0.1もしくは0.5 Gyを照射し(表1)、終生飼育を行った。人道的エンドポイントに達した個体の解剖を行い、肉眼的に異常が観察された各臓器のホルマリン固定および凍結保存を行った。マウス死亡日齢(解剖日齢)より寿命を解析した。また、ホルマリン固定した臓器よりHE標本を作成、スライドスキャナーで電子化、バーチャルスライドより病理診断を行った。解剖時に凍結保存した腫瘍サンプルよりDNA抽出を行い、11番と13番染色体のLOH(Loss of Heterozygosity)解析を行い、図1に示す放射線特異的シグネチャーを観察した。また、凍結腫瘍サンプルよりRNAを抽出し、*p53* 遺伝子の突然変異解析を行った。

	使用匹数
非照射	102
ガンマ線 0.5 Gy	47
速中性子線 0.1 Gy	58
速中性子線 0.5 Gy	52
炭素線 0.1 Gy	51
炭素線 0.5 Gy	37

表1: 照射条件と匹数

4. 研究成果

マウスの死亡日齢より寿命を算出した。結果、中性子線0.5 Gy群は非照射群よりも寿命の短縮が確認されたが、その他照射群では、有意な短縮は認められなかった。次に、解剖時に観察し

た各臓器の異常をまとめた結果、非照射群、各照射群ともに、髄芽腫以外に皮膚腫瘍、筋肉腫、脾臓腫瘍（リンパ節腫大含）、肝腫瘍、肺腫瘍を観察し、非照射群のみもしくは照射群のみで観察された腫瘍はなかった。皮膚腫瘍および筋肉腫においては、非照射群に比べて照射群で増加傾向が観察された。肝腫瘍においては、速中性子線 0.5 Gy 群、炭素線 0.5 Gy 群で非照射群に比べて増加傾向が観察されたが、それ以外の照射群と非照射群との違いは観察されず、肺腫瘍ではどの照射群においても増加傾向は観察されなかった（表 2）。

	皮膚腫瘍	筋肉腫	肝腫瘍	肺腫瘍	脾腫瘍
ガンマ線 0.5 Gy			○	○	
速中性子線 0.1 Gy			○	○	○
速中性子線 0.5 Gy				○	○
炭素線 0.1 Gy			○	○	○
炭素線 0.5 Gy				○	○

○：非照射群と頻度が変わらない
 ○：非照射群よりも高割合

表 2：解剖時に観察された腫瘍の割合

そこで本研究課題では、皮膚腫瘍に焦点を絞り、病理学的診断を行った。診断の結果、肉眼所見で観察した皮膚腫瘍はほぼ基底細胞がんであった。各実験群における基底細胞がんの発生率を算出した結果、炭素線 0.1 Gy、中性子線 0.1 Gy および 0.5 Gy 群は非照射群に比べて有意増加していた。また、基底細胞がんは 1 匹あたり複数個発症している個体が観察され、特に中性子線 0.5 Gy 群においてはその数が増加する傾向を示した。さらに基底細胞がんの病理組織学的サブタイプ分類を行った。図 2 に典型的な病理像を示す。

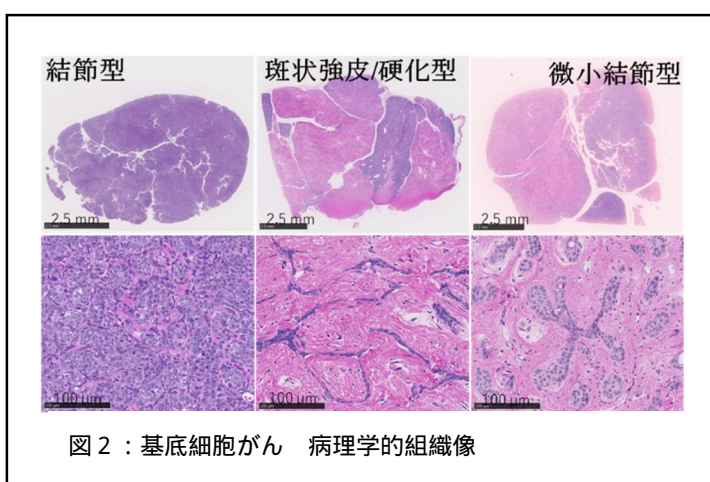


図 2 に典型的な病理像を示す。診断の結果、すべての実験群において大半は典型的な結節型であったが、炭素線照射群および中性子線照射群では結節型の一部である斑状強皮/硬化型と微小結節型の割合が増加する傾向を観察した。斑状強皮/硬化型と微小結節型は、人の基底細胞がんにおいて再発率の高い aggressive-growth 型に分類されており、炭素線・中性子線被ばくは、悪性度の高いがんを発生させる可能性があることを示唆した。

図 1 に示すような放射線シグネチャーを調べるため、腫瘍より抽出した DNA および RNA を用いて分子学的解析を行った。最初に、基底細胞がん発症の原因遺伝子として報告がある *Ptch1* 遺伝子の局在している 13 番染色体の LOH 解析を行った。結果、解析した基底細胞がんのほぼすべてが、図 1 に示すような組み換えにより LOH を生じ正常の *Ptch1* 遺伝子が欠失している S 型と、欠失により正常の *Ptch1* 遺伝子が欠失している R 型のどちらかであった。しかし、非照射群と照射群において S 型または R 型が有意な実験群はなく、放射線に特異的な欠失は見られなかった。次に、もうひとつの原因遺伝子として報告されている *p53* 遺伝子の局在している 11 番染色体の LOH 解析を行った。結果、非照射群および照射群ともに LOH を伴う基底細胞がんの頻度は低かった。そこで、*p53* 遺伝子のダイレクトシーケンスを行い、点突然変異、逆位、欠失等の突然変異を調べた。結果、LOH 解析の結果同様、非照射群と照射群ともに突然変異を有している基底細胞がんの頻度は低かった。このことから、本モデルマウスから発症した基底細胞がんでは *p53* 遺伝子はがん化にあまり関与していないことが示された。

以上の結果より、放射線の線質はがんの種類（発生臓器）には依存しないことが明らかとなり、本研究課題で解析した皮膚の基底細胞がんでは放射線特異的な分子学的特徴は観察されなかった。しかし、炭素線や中性子線被ばくでは、がんの発生リスクを高めるだけでなく、悪性度の高いがんを発生させる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 鶴岡千鶴, 上西睦美, 品川まゆみ, 尚奕, 甘崎佳子, 砂押正章, 今岡達彦, 柿沼志津子
2. 発表標題 Evaluation of the carbon-ion induction of medulloblastoma in Ptch1 heterozygous mice
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 鶴岡千鶴, 森岡孝満, 上西睦美, 品川まゆみ, 柿沼志津子
2. 発表標題 Genomic mutation analysis of precancerous lesions in radiation-induced medulloblastoma
3. 学会等名 第19回幹細胞シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鶴岡 千鶴
2. 発表標題 Ptch1遺伝子ヘテロ欠損マウスの基底細胞がんにおける放射線特異的シグナチャー解析
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 鶴岡千鶴, 森岡孝満, 上西睦美, 尚奕, 品川まゆみ, 柿沼志津子
2. 発表標題 放射線線質の違いがマウス放射線誘発皮膚がんにもたらす影響
3. 学会等名 日本宇宙生物科学会第37回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鶴岡千鶴、森岡孝満、上西睦美、尚奕、品川まゆみ、柿沼志津子
2. 発表標題 Effect of radiation quality on the radiation-induced basal cell carcinoma in Ptch1+/- mice
3. 学会等名 17th International Congress for Radiation Research (国際学会)
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
研究協力者	森岡 孝満 (Morioka Takamitsu) (70253961)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学研究所 放射線影響予防研究部・グループリーダー (82502)	
研究協力者	柿沼 志津子 (Kakinuma Shizuko) (20392219)	放射線医学研究所 放射線影響研究部・放射線医学研究所 放射線影響予防研究部・客員研究員 (82502)	

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