

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K12176

研究課題名（和文）放射線誘発B細胞リンパ腫の発がんメカニズム解析

研究課題名（英文）Analysis of carcinogenic mechanisms of radiation-induced B-cell lymphoma

研究代表者

臺野 和広（Daino, Kazuhiro）

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 放射線影響研究部・上席研究員

研究者番号：90543299

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）：放射線被ばくにより急性リンパ性白血病のリスクが上昇することが報告されているが、被ばくによる発がんのメカニズムは不明であった。本研究では、非照射群及び、照射群に発生したマウスB細胞リンパ腫のゲノム解析を行い、複数のドライバー変異遺伝子候補の同定に加え、Pax5を含む4番染色体の中間部欠失、Jak3のミスセンス変異が放射線で誘発される早期発症B細胞リンパ腫に特徴的なゲノム異常であることを明らかにした。また、腫瘍におけるJak/Statシグナル経路の活性化を確認した。本研究により、放射線被ばくにより誘発されるB細胞リンパ腫の特徴や発がんメカニズムが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

放射線被ばくにより急性リンパ性白血病のリスクが上昇することが報告されているが被ばくによる発がんのメカニズムは不明であった。また、疫学調査や従来の動物を用いたがんリスク研究では放射線被ばくに起因するがんと自然発生したがんを区別できないため、がんの発生率が低い低線量・低線量率の被ばくによるがんリスクを正確に評価することが困難であるという課題が存在する。本研究により、放射線被ばくにより誘発されるB細胞リンパ腫の特徴や発がんメカニズムが明らかになった。得られた成果は、被ばくに起因するがんの正確なリスク評価や治療の分子標的に関する情報として有用な知見となる。

研究成果の概要（英文）：Radiation exposure increases the risk of acute lymphoblastic leukemia. However, the mechanisms involved in radiation-induced acute lymphoblastic leukemia remain unclear. In this study, we investigated genomic aberrations in mouse B-cell lymphomas developed from non-irradiated or irradiated groups, and identified several candidate driver mutations, as well as interstitial deletion of chromosome 4 including Pax5 locus and missense mutations in Jak3, which are characteristic of radiation-induced early-onset B-cell lymphoma. We also confirmed activation of Jak/Stat signaling in the lymphoma. This study revealed the characteristics and carcinogenic mechanisms of radiation-induced B-cell lymphoma.

研究分野：放射線生物学、分子生物学

キーワード：放射線 発がん ゲノム リンパ種

1. 研究開始当初の背景

東京電力福島第一原子力発電所事故や医療における放射線の利用の拡大とともに、被ばくによる発がんが一層懸念されている。広島・長崎の原爆被爆者の疫学研究では、急性リンパ性白血病が、被ばく後の早期にリスクが増加する腫瘍であることが示されている (*Radiat. Res.*, 179:361, 2013)。また、放射線治療を受けた患者において、二次がんとして急性リンパ性白血病の発症が見られるという報告がある (*Ann. Oncol.*, 19:1634, 2008)。リンパ性腫瘍は、その腫瘍細胞の起源により T 細胞性と B 細胞性とに分けられるものの、これらの研究では腫瘍細胞の分類が行われていない。加え、自然発症と放射線被ばくによるがんを区別できないため、正確な発がんリスクの評価が必要である。

ヒトに発症するリンパ性腫瘍の7割以上は、実に B 細胞性の腫瘍であることが知られており、我々はこれまで、実験動物発がん実験により収集してきた試料を用いて、放射線を被ばくしたマウス (B6C3F1 系統) に発生したリンパ性腫瘍の分類を行い、放射線被ばくにより、B 細胞性リンパ腫のなかでも未成熟な B 細胞のリンパ腫が早期に誘発されることを明らかにしてきた (*J Radiat Res.*, 61:648, 2020)。また近年、B 細胞リンパ腫の一部についてゲノム解析を行った結果、放射線被ばく後早期に誘発される未成熟な B 細胞リンパ腫には、4 番染色体におけるゲノム欠失が見られ、放射線により生じた欠失である可能性が示唆された。さらに、欠失が共通している領域に存在する遺伝子を探索したところ、リンパ球細胞の分化に関連する遺伝子が存在していることが分かった。加え、放射線被ばく後早期に誘発される未成熟な B 細胞リンパ腫では、Jak-Stat シグナル伝達経路に関わるがん関連遺伝子の1つに、突然変異による遺伝子異常も認められることを見出した。

2. 研究の目的

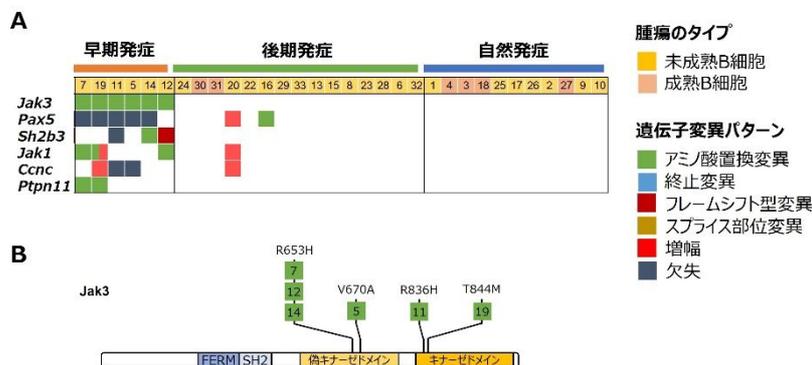
本研究は、放射線被ばく群に発症に発生したマウス B 細胞リンパ腫に見られるゲノム異常を他検体において、かつ次世代シーケンス技術により網羅的に解析することで、被ばくによる B 細胞リンパ腫の特徴とその発症に関わるメカニズムを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

被ばくにより早期に誘発されるマウス B 細胞リンパ腫に見られるゲノム異常の特徴を明らかにするため、B 細胞リンパ腫の次世代シーケンスやアレイ CGH (comparative genomic hybridization) 解析法により、非照射群及び、照射群(ガンマ線、4Gy)に発生した B 細胞リンパ腫のゲノム異常の網羅的解析を行う。また、ゲノム解析の結果から B 細胞リンパ腫発症に関与すると考えられるシグナル伝達経路の異常をウエスタンブロット解析法により確認する。被ばくによる B 細胞リンパ腫発症に関わるメカニズムを明らかにするため、放射線を照射したマウスから経時的に採取したリンパ組織についてゲノム異常の解析を行う。

4. 研究成果

非照射群及び、放射線照射群に発生したマウス B 細胞リンパ腫について次世代シーケンス解析を行った結果、複数のドライバー変異遺伝子候補の同定に加え、放射線照射群に誘発される早期発症 B 細胞リンパ腫では、後期発症や自然発症 B 細胞リンパ腫と異なり、*Jak3* 遺伝子における機能獲得型のミスセンス変異が高頻度に認められることが分かった (図 1A、B)。さらに、*Pax5* 遺伝子の欠失も高頻度に観察されることが分かった (図 1A)。*Pax5* 遺伝子は、B 細胞の分化制御に関わる転写因子であることから、早期発症 B 細胞リンパ腫では、*Pax5* 遺伝子の欠失により B 細胞の分化異常が引き起こされていると推測された。



また、アレイ CGH 解析法を用いて、B 細胞リンパ腫におけるゲノム DNA のコピー数変化の解析を行った結果、放射線照射群に誘発される早期発症 B 細胞リンパ腫では、*Pax5* 遺伝子が存在する 4 番染色体の中間部欠失により同遺伝子の欠失が引き起こされていることが分かった (図

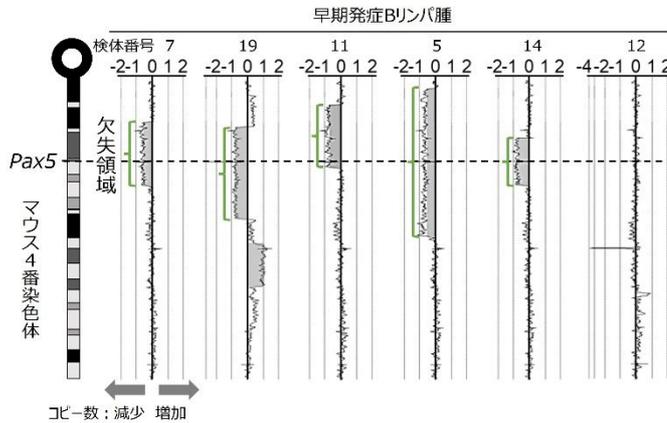


図2. 放射線により早期発症したB細胞リンパ腫に見られる4番染色体の中間部欠失。

早期発症B細胞リンパ腫のアレイCGH解析による4番染色体におけるゲノムDNAコピー数の変化。4番染色体上のPax5遺伝子の位置を点線で示す。

次世代シーケンス解析の結果、放射線で誘発される早期発症B細胞リンパ腫では、*Jak3*のミスセンス変異が高頻度に観察されたことから、B細胞リンパ腫におけるJak/Statシグナル伝達経路の活性化状態を調べるため、Stat5及び、その活性化型であるリン酸化Stat5タンパク質をウエスタンブロット解析法により観察した。その結果、放射線で誘発される早期発症B細胞リンパ腫では、後期発症や自然発症B細胞リンパ腫と比べ、Jak/Statシグナル伝達経路が活性化していることが分かった(図3)。

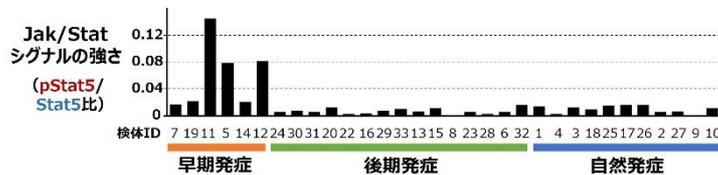


図3. B細胞リンパ腫におけるJak/Stat経路の活性化状態

放射線により早期発症したB細胞リンパ腫では、Jak/Stat経路の活性化が見られる。

さらに、放射線を照射したマウスから経時的に採取したリンパ組織の染色体解析とシーケンス解析を行い、放射線照射後にPax5を含む4番染色体の中間部欠失と*Jak3*のミスセンス変異が観察されることを確認した(未発表データ)。

これらの結果から、放射線により4番染色体の中間部欠失が誘発され、Pax5遺伝子の機能が失われることによりB細胞の分化停止が引き起こされ、その後、*Jak3*遺伝子に機能獲得型の突然変異が生じることで、Jak/Stat経路を介した細胞増殖の活性化によりB細胞リンパ腫が発症すると考えられた(図4)。

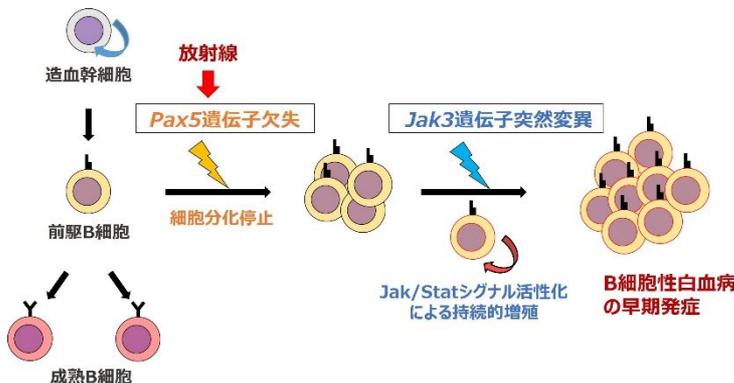


図4. 放射線によりB細胞リンパ腫が生じるメカニズム

本研究により、放射線被ばくにより誘発されるB細胞リンパ腫の特徴や発がんのメカニズムが明らかになった。得られた成果は、放射線被ばくに起因するがんの正確なリスク評価や治療の分子標的に関する情報として有用な知見となる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tachibana Hirotaka, Daino Kazuhiro, Ishikawa Atsuko, Morioka Takamitsu, Shang Yi, Ogawa Mari, Matsuura Akira, Shimada Yoshiya, Kakinuma Shizuko	4. 巻 43
2. 論文標題 Genomic profile of radiation-induced early-onset mouse B-cell lymphoma recapitulates features of Philadelphia chromosome-like acute lymphoblastic leukemia in humans	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Carcinogenesis	6. 最初と最後の頁 693 ~ 703
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/carcin/bgac034	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 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件／うち国際学会 3件）

1. 発表者名 橋拓孝, 臺野和広, 森岡孝満, 尚突, 鶴岡千鶴, 飯塚大輔, 石川敦子, 島田義也, 柿沼志津子
2. 発表標題 放射線が誘発するマウス前駆B細胞性リンパ腫のゲノムプロファイル
3. 学会等名 第35回発癌病理研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 臺野和広, 橋拓孝, 石川敦子, 鈴木健之, 森岡孝満, 柿沼志津子
2. 発表標題 Genomic studies of radiation-induced tumors for cancer risk assessment from low-dose and low-dose-rate radiation
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 Tachibana Hirotaka, Daino Kazuhiro, Morioka Takamitsu, Shang Yi, Tsuruoka Chizuru, Iizuka Daisuke, Ishikawa Atsuko, Shimada Yoshiya, Kakinuma Shizuko
2. 発表標題 Genomic profile of radiation-induced mouse B-cell lymphoma is similar to that of Philadelphia chromosome-like B-cell leukemia
3. 学会等名 International Mini Workshop on Low Dose and Low Dose-Rate Radiation Research (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tachibana Hirotaka, Daino Kazuhiro, Ishikawa Atsuko, Shang Yi, Akira Matsuura, Imaoka Tatsuhiko, Shimada Yoshiya, Kakinuma Shizuko
2. 発表標題 Pax5 and Jak3 are paired genes of radiation-induced mouse precursor B-cell lymphomas -a candidate indicator to distinguish radiation-induced and spontaneous B-cell leukaemia
3. 学会等名 ICRP2021+1 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 橘拓孝, 臺野和広, 石川敦子, 森岡孝満, 鶴岡千鶴, 尚奕, 砂押正章, 松浦彰, 島田義也, 柿沼志津子
2. 発表標題 動物実験による放射線誘発 B細胞リンパ腫の分子発がんメカニズム解析
3. 学会等名 第58回日本アイソトープ・放射線研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 橘拓孝, 臺野和広, 石川敦子, 森岡孝満, 尚奕, 松浦彰, 島田義也, 柿沼志津子
2. 発表標題 放射線誘発B細胞リンパ腫の分子発がんメカニズム解析
3. 学会等名 第1回放射線影響研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 橘拓孝, 臺野和広, 飯塚大輔, 尚奕, 鶴岡千鶴, 砂押正章, 森岡孝満, 吉田光明, 松浦彰, 島田義也, 柿沼志津子
2. 発表標題 Analysis of the carcinogenic process of early-onset B-cell lymphoma in mice by radiation
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 Tachibana Hiroataka, Daino Kazuhiro, Ishikawa Atsuko, Morioka Takamitsu, Shang Yi, Matsuura Akira, Shimada Yoshiya, Kakinuma Shizuko
2. 発表標題 Molecular signatures of radiation-induced mouse precursor B-cell lymphoma
3. 学会等名 International Symposium on the Environmental Dynamics of Radionuclides and Biological Effects of Low Dose-Rate Radiation (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroataka Tachibana, Kazuhiro Daino, Takamitsu Morioka, Atsuko Ishikawa, Yi Shang, Mari Ogawa, Misuzu Fujita, Akira Matsuura, Yoshiya Shimada, Shizuko Kakinuma
2. 発表標題 Characteristics and carcinogenic mechanisms of radiation-induced B-cell lymphoma in mice
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 Hiroataka Tachibana, Kazuhiro Daino, Takamitsu Morioka, Atsuko Ishikawa, Yi Shang, Yoshiya Shimada, Shizuko Kakinuma
2. 発表標題 Molecular mechanisms involved in radiation-induced mouse B-cell lymphoma
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020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
---------------------------	-----------------------	----

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