

放射線災害・医科学研究拠点
平成28年度 共同利用・共同研究
成果報告集

広島大学原爆放射線医科学研究所
長崎大学原爆後障害医療研究所
福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター

目次

平成 28 年度共同利用・共同研究採択課題一覧	i
平成 28 年度共同利用・共同研究成果報告	
福島原発事故対応プロジェクト課題	1
①低線量・低線量率放射線の影響に関する研究	1
②内部被ばくの診断・治療法の開発	25
③放射線防護剤の開発研究	27
④放射線災害におけるリスクコミュニケーションのあり方等に関する研究	30
重点プロジェクト課題	39
①ゲノム損傷修復の分子機構に関する研究	39
②放射線発がん機構とがん治療開発に関する研究	66
③放射線災害医療開発の基礎的研究	94
④被ばく医療の改善に向けた再生医学的基礎研究	98
⑤放射線災害における健康影響と健康リスク評価研究	104
⑥ RI の医療への応用	120
自由研究	128
＜付録＞	
平成 28 年度共同利用・共同研究課題募集要項	171
採択状況	174

平成28年度共同利用・共同研究採択課題一覧

平成28年度共同利用・共同研究採択課題一覧

整理番号	共同研究課題名	共同研究代表者	共同研究代表者所属機関	受入研究者	受入研究者所属機関
------	---------	---------	-------------	-------	-----------

【福島原発事故対応プロジェクト課題】

①低線量・低線量率放射線の影響に関する研究(34件)

福1-1	低線量放射線前照射の寿命延長効果における経時的 DNA 修復機構の解明	岡崎 龍史	産業医科大学	鈴木 啓司	長崎大学
福1-2	放射線によるクラスター DNA 損傷の生成機構とその生物学的影響	渡邊 立子	量子科学技術 研究開発機構	鈴木 啓司	長崎大学
福1-3	高感度突然変異検出系を用いた放射線影響解析	田内 広	茨城大学	鈴木 啓司	長崎大学
福1-4	ミトコンドリア異常を指標とした低線量放射線影響評価	志村 勉	国立保健医療科学院	笹谷めぐみ	広島大学
福1-5	低線量率放射線誘発細胞応答における酸化ストレスの関与	小林 純也	京都大学	松浦 伸也	広島大学
福1-6	ヒト iPS 細胞の染色体安定化機構と放射線の影響に関する研究	嶋本 顕	広島大学	河合 秀彦	広島大学
福1-7	若年者甲状腺がん発症関連遺伝子群の同定と発症機序の解明	鈴木 眞一	福島県立医科大学	光武 範吏	長崎大学
福1-8	高感度 DNA 損傷分析による低線量・低線量率放射線生物影響の分子機構解明	寺東 宏明	佐賀大学	保田 浩志	広島大学
福1-9	消化管における EdU 陽性細胞と DNA 損傷保持	大塚 健介	電力中央研究所	鈴木 啓司	長崎大学
福1-10	低線量被ばくによるゲノム障害に対する修復機構の造血システムにおける使い分けの解析	大坪 素秋	別府大学	瀧原 義宏	広島大学
福1-11	The impact of radiation accidents factors on the pregnancy and the subsequent development of children after exposure in utero.	Alexander Stojarov	Belarusian State Medical University	Naomi Hayashida	長崎大学
福1-12	低線量率被ばくに対する造血システムの単一細胞レベルでの分子応答の解析	安永晋一郎	福岡大学	瀧原 義宏	広島大学
福1-13	マウスの最新データから見る DNA の損傷・回復の数理的モデルからの検討	真鍋勇一郎	大阪大学	鈴木 啓司	長崎大学
福1-14	Assessment of the health risks of internal exposure from low dose 137Cs around Chernobyl	Alexander Gutevich	Zhitomir Inter-Area Medical Diagnostic Center	Naomi Hayashida	長崎大学
福1-15	放射線災害時における低線量電子スピン共鳴 (ESR) 被ばく測定法を用いた長崎原爆被爆者及び福島川内村住民の被ばく線量推定	島崎 達也	熊本大学	松田 尚樹	長崎大学
福1-16	低線量率放射線被ばくに対する組織応答特異性の解析	中村 麻子	茨城大学	笹谷めぐみ	広島大学
福1-17	低線量放射線被ばくによる乳腺幹細胞への影響解析	今岡 達彦	量子科学技術 研究開発機構	飯塚 大輔	広島大学
福1-18	発がん高感受性モデルマウスを用いた低線量・低線量率発がんリスク評価	李 建祥	蘇州大学	神谷 研二	広島大学

整理番号	共同研究課題名	共同研究代表者	共同研究代表者所属機関	受入研究者	受入研究者所属機関
福1-19	低線量率被ばくによる免疫担当細胞の発生・分化異常の解析	菅野 雅元	広島大学	瀧原 義宏	広島大学
福1-20	放射線応答細胞を系統的可視化するためのノックインマウスの作出と、それを用いた放射線発がん標的細胞の同定	星 裕子	電力中央研究所	本田 浩章	広島大学
福1-21	SIPS 誘導と液性因子分泌に対する低線量放射線の影響の解析	山盛 徹	北海道大学	飯塚 大輔	広島大学
福1-22	胎児期被ばくによる組織幹細胞におけるDNA 損傷の蓄積と排除	山内 一己	環境科学技術研究所	鈴木 啓司	長崎大学
福1-23	低線量・低線量率放射線発がんのエピゲノム解析	臺野 和広	量子科学技術研究開発機構	笹谷めぐみ	広島大学
福1-24	低線量・低線量率放射線が細胞に与える影響を定量評価するための新たな指標づくり	森島 信裕	理化学研究所	神谷 研二	広島大学
福1-25	長期被ばくに関するマウス最新実験における線量率効果の数値モデルからの検討	和田 隆宏	関西大学	佐藤 健一	広島大学
福1-26	発がん高感受性モデルマウスを用いたトリチウム水暴露による発がんのリスク評価	馬田 敏幸	産業医科大学	神谷 研二	広島大学
福1-27	低線量・低線量率放射線被ばくがマウス個体内で Th1/Th2 バランスに及ぼす影響	高山 英次	朝日大学	一戸 辰夫	広島大学
福1-28	低線量率長期被ばくによる放射線誘発白血病マウスの原因遺伝子の探索	廣内 篤久	環境科学技術研究所	神谷 研二	広島大学
福1-29	東日本大震災とそれに引き続く東京電力福島第一原子力発電所事故の前後における福島県の悪性新生物罹患と疾病特異的死亡率の変化に関する研究	佐々木栄作	福島県立医科大学	佐治 重衡	福島県立医科大学
福1-30	チェルノブイリ周辺地域と本邦の自然発症性甲状腺癌の病理組織学的検討	伊東 正博	国立病院機構 長崎医療センター	中島 正洋	長崎大学
福1-31	里山に大気沈着した放射性セシウムの動態解明と環境調和型除染技術の開発	大河内 博	早稲田大学	反町 篤行	福島県立医科大学
福1-32	Effects of radiation on cardiac stem cells and cardiac repair	Ke Cheng	North Carolina State University	Tao-Sheng Li	長崎大学
福1-33	扁平上皮癌幹細胞の未分化性及び sphere formation に及ぼす低線量放射線の影響	岡本 哲治	広島大学	松浦 伸也	広島大学
福1-34	完全無血清・無フィーダー培養系での iPS 細胞誘導に及ぼす低線量放射線の影響	岡本 哲治	広島大学	松浦 伸也	広島大学

【福島原発事故対応プロジェクト課題】

②内部被ばくの診断・治療法の開発(2件)

福2-1	放射線被曝のバイオドジメトリーを志向した尿プロテオーム解析	泉 俊輔	広島大学	飯塚 大輔	広島大学
福2-2	Mn-56 の内部被曝実験を基礎にした内部被曝量推定法の開発	藤本 成明	広島大学	中島 正洋	長崎大学

整理番号	共同研究課題名	共同研究代表者	共同研究代表者所属機関	受入研究者	受入研究者所属機関
------	---------	---------	-------------	-------	-----------

【福島原発事故対応プロジェクト課題】

③放射線防護剤の開発研究(4件)

福3-1	伝統生薬・未解明植物由来の放射線防御物質探索研究	松浪 勝義	広島大学	田代 聡	広島大学
福3-2	シスチン・テアニンのラットにおける放射線防護効果	土屋 誉	仙台市医療センター 仙台オープン病院	中島 正洋	長崎大学
福3-3	造血システムの低線量率被ばくに対する防護法の開発	白須 直人	福岡大学	瀧原 義宏	広島大学
福3-4	放射線防護剤候補化合物の活性評価および作用機構解析	森田 明典	徳島大学	稲葉 俊哉	広島大学

【福島原発事故対応プロジェクト課題】

④放射線災害におけるリスクコミュニケーションのあり方等に関する研究(10件)

福4-1	福島森林下流水域水田の汚染メカニズム解明	桧垣 正吾	東京大学	松田 尚樹	長崎大学
福4-2	放射線リスクへの対応における地域保健活動のあり方に関する研究	山口 一郎	国立保健医療科学院	松田 尚樹	長崎大学
福4-3	広島・長崎の平和宣言から読み解く復興のためのリスクコミュニケーション	和泉志津恵	滋賀大学	佐藤 健一	広島大学
福4-4	福島における甲状腺検査被験者の不安やニーズに関する面接調査	高村 昇	長崎大学	後藤 紗織	福島県立医科大学
福4-5	地域の保健計画策定支援を通じた専門職のヘルスリテラシー向上に資する研究	黒田佑次郎	福島県立医科大学	後藤 あや	福島県立医科大学
福4-6	放射線災害後の放射線を含む包括的な健康リスク要因変化の評価研究	田淵 貴大	大阪府立成人病センター	大平 哲也	福島県立医科大学
福4-7	放射線災害における情報受信者の社会性尺度等に着眼した効果的な情報発信手法に関する研究	飯本 武志	東京大学	保田 浩志	広島大学
福4-8	福島原発事故後の内部被ばく検査受診の経時傾向と受診行動に関わる因子についての分析	野村 周平	東京大学	村上 道夫	福島県立医科大学
福4-9	小学生等に対する効果的な放射線教育法の開発研究	千田 浩一	東北大学	大津留 晶	福島県立医科大学
福4-10	食品に含まれる放射性物質への態度と行動に関する研究	竹田 宜人	横浜国立大学	村上 道夫	福島県立医科大学

【重点プロジェクト課題】

①ゲノム損傷修復の分子機構に関する研究(42件)

重1-1	DNA 損傷修復・応答因子の時系列解析	矢野 憲一	熊本大学	鈴木 啓司	長崎大学
重1-2	放射線誘発突然変異の成立過程における、修復が困難な DNA 損傷の役割	野田 朝男	放射線影響研究所	鈴木 啓司	長崎大学
重1-3	ヒストン H2AZ ユビキチン化のゲノム安定性維持における機能の解明	廣田 耕志	首都大学東京	田代 聡	広島大学

整理番号	共同研究課題名	共同研究代表者	共同研究代表者所属機関	受入研究者	受入研究者所属機関
重1-4	DNA 損傷修復におけるポリコーン群の役割に関する研究	磯野 協一	理化学研究所	田代 聡	広島大学
重1-5	エピゲノム修飾および転写後調整による生殖細胞の発生制御	吉田 進昭	東京大学	本田 浩章	広島大学
重1-6	放射線ゲノムストレスへの応答と細胞分化制御を繋ぐ新規中心体パスウェイの解明	猪子 誠人	愛知県がんセンター研究所	宮本 達雄	広島大学
重1-7	ヒストンメチル化修飾による染色体安定性制御機構の解析	小林 純也	京都大学	本田 浩章	広島大学
重1-8	DNA 損傷応答分子 53BP1 発現による甲状腺濾胞性腫瘍術前診断マーカーの開発	大坪 竜太	長崎大学	中島 正洋	長崎大学
重1-9	ゲノム障害に対する生体恒常性維持・変容機構の解明	安田 武嗣	量子科学技術研究開発機構	中沢 由華	長崎大学
重1-10	低酸素環境下における放射線応答ゲノムデータベース集合知解析	坊農 秀雅	情報・システム研究機構	谷本 圭司	広島大学
重1-11	機械学習を用いたゲノム損傷修復に関する画像解析	斉藤 典子	熊本大学	田代 聡	広島大学
重1-12	次世代シーケンサーを使った染色体二重鎖切断部位の解析	花田 克浩	大分大学	中沢 由華	長崎大学
重1-13	ヒストン H3K36 メチル化を介したゲノム損傷修復機構	浦 聖恵	千葉大学	田代 聡	広島大学
重1-14	核内受容体タンパク質のリガンド依存的な結合様式の解明	楯 真一	広島大学	田代 聡	広島大学
重1-15	細胞ストレスに対する小胞体機能変化の解析	今泉 和則	広島大学	長町安希子	広島大学
重1-16	DNA 損傷修復における DNA ライセンス化制御機構の解明	工藤 保誠	徳島大学	河合 秀彦	広島大学
重1-17	放射線照射後の突然変異に関わる DNA 二本鎖切断修復選択性の研究	柴田 淳史	群馬大学	山内 基弘	長崎大学
重1-18	家族性乳癌における DNA 修復能測定法の開発	田中 彩	長崎大学	光武 範吏	長崎大学
重1-19	細胞内環境に特有のゲノム損傷修復関連反応の分子機構解析	松永 司	金沢大学	河合 秀彦	広島大学
重1-20	ゲノム損傷修復における核膜の役割	平野 泰弘	大阪大学	田代 聡	広島大学
重1-21	ゲノム編集を用いた DNA 損傷応答遺伝子破壊株の作製と解析	島田 幹男	東京工業大学	松浦 伸也	広島大学
重1-22	DNA 損傷修復に対するクロマチン結合因子 BAF の役割	原口 徳子	情報通信研究機構	田代 聡	広島大学
重1-23	A cross-cultural research health maintenance conception among population in compliance with standard evaluation of health condition technique	Tamara Sharshakova	Gomel State Medical University	Naomi Hayashida	長崎大学

整理番号	共同研究課題名	共同研究代表者	共同研究代表者所属機関	受入研究者	受入研究者所属機関
重1-24	ゲノム損傷修復の分子機構に関する研究	石田 万里	広島大学	田代 聡	広島大学
重1-25	転写依存的ゲノム損傷修復の解析	倉岡 功	大阪大学	田代 聡	広島大学
重1-26	DNA 修復機構の破綻による疾患発症機構の解明	岡 泰由	名古屋大学	中沢 由華	長崎大学
重1-27	生殖細胞の DNA 損傷の新規評価方法の開発	挟間 章博	福島県立医科大学	大津留 晶	福島県立医科大学
重1-28	紫外線誘発 DNA 損傷の修復に関わるクロマチン構造制御	菅澤 薫	神戸大学	田代 聡	広島大学
重1-29	The effect of radiation exposure on the Bmi-1 highly expressed cardiac stem cells and their function	Yucui Xie	Shanghai Ruijin Hospital	Tao-Sheng Li	長崎大学
重1-30	PCNA のポリユビキチン化の細胞生物学的解析	増田 雄司	名古屋大学	河合 秀彦	広島大学
重1-31	細胞核構造と DNA 修復マシナリーの機能的相互作用解析	原田 昌彦	東北大学	田代 聡	広島大学
重1-32	低酸素環境下におけるゲノム損傷応答とがん治療法開発	江口 英孝	埼玉医科大学	谷本 圭司	広島大学
重1-33	ab initio 法によるゲノム損傷修復遺伝子の網羅的同定と機能解析	森 努	福島県立医科大学	大津留 晶	福島県立医科大学
重1-34	NBS1 タンパク質による DNA 損傷応答制御機構に関する研究	田内 広	茨城大学	松浦 伸也	広島大学
重1-35	DNA 損傷応答シグナルの活性化における TIP60 ヒストンアセチル化酵素複合体の役割	井倉 毅	京都大学	田代 聡	広島大学
重1-36	放射線による DNA 二本鎖切断修復後の染色体安定性維持機構の解明	宇井 彩子	東京工科大学	山内 基弘	長崎大学
重1-37	放射線による DNA 二本鎖切断修復におけるプロテアソーム因子 UBE3C の機能の解析	岡田麻衣子	東京工科大学	山内 基弘	長崎大学
重1-38	ビタミン B6 摂取における大腸癌予防効果の遺伝子解析	矢中 規之	広島大学	金井 昭教	広島大学
重1-39	ゲノム構造変換を伴う細胞分化過程における DNA 損傷の有無の検証	落合 博	広島大学	松浦 伸也	広島大学
重1-40	口腔扁平上皮癌の放射線耐性に関与するエピゲノム異常の解析	中山 秀樹	熊本大学	金井 昭教	広島大学
重1-41	がん細胞にみられるヒストン変異の相同組換え修復への影響解析	胡桃坂仁志	早稲田大学	田代 聡	広島大学
重1-42	Establishment of the Carbon ion therapy against cancer stem cells of head and neck cancer	Makiko Fujii	Hiroshima University	Shinya Matsuura	広島大学

整理番号	共同研究課題名	共同研究代表者	共同研究代表者所属機関	受入研究者	受入研究者所属機関
------	---------	---------	-------------	-------	-----------

【重点プロジェクト課題】

②放射線発がん機構とがん治療開発に関する研究(47件)

重2-1	トランスジェニックマウスを用いた減数分裂に関与する遺伝子 SCP3 の機能解析	宮川 清	東京大学	本田 浩章	広島大学
重2-2	エピジェネティクス因子による慢性骨髄性白血病の制御機構解析	正本 庸介	東京大学	本田 浩章	広島大学
重2-3	放射線被ばくマウスの組織・臓器における染色体異常解析	有吉健太郎	弘前大学	鈴木 啓司	長崎大学
重2-4	Utx の形質細胞における役割の解析	三村 尚也	千葉大学	本田 浩章	広島大学
重2-5	メトホルミンによる ATM 活性化分子メカニズムの解明	濱本 知之	昭和薬科大学	鈴木 啓司	長崎大学
重2-6	ウイルス感染と放射線照射によるゲノム損傷に関する研究	吉山 裕規	島根大学	松浦 伸也	広島大学
重2-7	放射線被ばくによるエピジェネティクス攪乱機構解明	横谷 明德	量子科学技術 研究開発機構	鈴木 啓司	長崎大学
重2-8	造血幹細胞におけるヒストン脱メチル化酵素 Fbxl10 の機能解析	小林 央	国立国際医療 研究センター研究所	本田 浩章	広島大学
重2-9	がん細胞における染色体不安定性の成因の解明	池田 真教	東北大学	田代 聡	広島大学
重2-10	Pin 1 欠失の慢性骨髄性白血病発症・進展に対する関与の解析	丸 義朗	東京女子医科大学	本田 浩章	広島大学
重2-11	Spred-1 欠損による慢性骨髄性白血病の進展・発症への関与の解析	平尾 敦	金沢大学	本田 浩章	広島大学
重2-12	造血器悪性腫瘍の発症・進展に関与するエピゲノム異常の解析	松井 啓隆	熊本大学	長町安希子	広島大学
重2-13	アスコルビン酸の新たな機能探索による効果的がん抑制と放射線防護	土生 敏行	武庫川女子大学	河合 秀彦	広島大学
重2-14	正常 B リンパ球由来 iPS 細胞を用いた多発性骨髄腫の腫瘍起源異常 B リンパ球の解明	坂井 晃	福島県立医科大学	神谷 研二	広島大学
重2-15	細胞外マトリックスパーシカンの代謝によるがん微小環境の変容	渡辺 秀人	愛知医科大学	長町安希子	広島大学
重2-16	放射線被ばく時の正常細胞における PD-1/PD-L1 を介した免疫応答メカニズムの解明	佐藤 浩央	群馬大学	山内 基弘	長崎大学
重2-17	粒子線によって誘発される染色体転座と染色体テリトリーの関連性	新美 敦子	群馬大学	山内 基弘	長崎大学
重2-18	正常ヒト細胞における反復放射線照射獲得耐性機構の解明	鈴木 正敏	東北大学	鈴木 啓司	長崎大学
重2-19	重粒子線治療における放射線応答の解析	下川 卓志	量子科学技術 研究開発機構	金井 昭教	広島大学

整理番号	共同研究課題名	共同研究代表者	共同研究代表者所属機関	受入研究者	受入研究者所属機関
重2-20	悪性グリオーマ細胞の放射線感受性の検討	濱 聖司	広島大学	松浦 伸也	広島大学
重2-21	重粒子線に対する DNA 損傷応答反応の解析	中村 麻子	茨城大学	鈴木 啓司	長崎大学
重2-22	ラット乳腺における LRC と DNA 損傷保持	今岡 達彦	量子科学技術 研究開発機構	鈴木 啓司	長崎大学
重2-23	妊娠・出産による放射線誘発ラット乳がんのリスク低減化のメカニズム	高畠 賢	量子科学技術 研究開発機構	飯塚 大輔	広島大学
重2-24	放射線誘発肝がん原因遺伝子の探索	尚 奕	量子科学技術 研究開発機構	鈴木 啓司	長崎大学
重2-25	カロリー制限が放射線誘発急性骨髄性白血病を抑制するメカニズムの探索～造血幹細胞の細胞動態に伴う PU.1 遺伝子の発現～	小嶋 光明	大分県立看護科学大学	鈴木 啓司	長崎大学
重2-26	原爆被爆者に発症する骨髄異形成症候群の実態の解明	今西 大介	長崎県五島中央病院	宮崎 泰司	長崎大学
重2-27	原爆被爆者に発症する骨髄異形成症候群の実態の解明	吉田真一郎	国立病院機構 長崎医療センター	宮崎 泰司	長崎大学
重2-28	放射線誘発マウス肺がんの特徴とは？－病理組織解析からのアプローチ－	山崎 隼輔	量子科学技術 研究開発機構	鈴木 啓司	長崎大学
重2-29	Is the common SNP rs966423 at chromosome 2q35 etiology-specific and confers risk for sporadic thyroid cancer only?	Tatsiana Leonava	Minsk City Clinical Oncology Dispensary	Vladimir Saenko	長崎大学
重2-30	有機シリカナノ粒子複合体による分子標的診断治療技術の開発	三澤 雅樹	産業技術総合研究所	久保 均	福島県立医科大学
重2-31	放射線誘発乳がんにおけるゲノム異常の線質依存性	森山ひとみ	量子科学技術 研究開発機構	飯塚 大輔	広島大学
重2-32	鉄酸化細菌が作り出す酸化鉄 BIOX による放射線感受性増強メカニズムの研究	久能 樹	岡山大学	笹谷めぐみ	広島大学
重2-33	Pathological determinants of tumors developing after different period of latency after exposure to Chernobyl radiation in Belarus	Mikhail Frydman	Minsk City Clinical Oncology Dispensary	Vladimir Saenko	長崎大学
重2-34	放射線誘発消化管腫瘍の発がん過程における病理組織学的解析	森岡 孝満	量子科学技術 研究開発機構	笹谷めぐみ	広島大学
重2-35	ラット乳腺の放射線応答の年齢・線質による違い	蒲地 雄大	量子科学技術 研究開発機構	飯塚 大輔	広島大学
重2-36	放射線誘発がんにおけるエピゲノム異常の特異性に関する研究	臺野 和広	量子科学技術 研究開発機構	金井 昭教	広島大学
重2-37	放射線誘発腫瘍に関連する DNA メチル化標的遺伝子の同定	遠近 崇裕	量子科学技術 研究開発機構	笹谷めぐみ	広島大学
重2-38	細胞質内での ATM 活性化機構解明とその修飾による放射線防護・放射線増感	細井 義夫	東北大学	松浦 伸也	広島大学
重2-39	がん遺伝子過剰発現と放射線照射による複製異常と全ゲノムレベルでの CNVs 変化の比較解析	香崎 正宙	産業医科大学	山内 基弘	長崎大学

整理番号	共同研究課題名	共同研究代表者	共同研究代表者所属機関	受入研究者	受入研究者所属機関
重2-40	Epigenetic study of glioblastoma tumorigenesis	NIU Yamei	Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences	Tao-Sheng Li	長崎大学
重2-41	脳腫瘍幹細胞の集団的特性に対する放射線照射の影響	杉森 道也	富山大学	光武 範吏	長崎大学
重2-42	抗がん剤・放射線類似作用物質感受性関連遺伝子群の探索・同定と耐性機構の解明	鍛冶 利幸	東京理科大学	信國 好俊	広島大学
重2-43	HSP90 阻害剤によるがん放射線治療増強効果	藤井 義大	茨城県立医療大学	鈴木 啓司	長崎大学
重2-44	原爆被爆者に発症する良性単クローン性免疫グロブリン血症の実態の解明	對馬 秀樹	長崎みなとメディカルセンター 市民病院	宮崎 泰司	長崎大学
重2-45	放射線による甲状腺発癌プロモーション機構の解明	藤本 成明	広島大学	中島 正洋	長崎大学
重2-46	重粒子線の骨代謝におよぼす影響	澤尻 昌彦	広島大学	松浦 伸也	広島大学
重2-47	ヒトがんにおける発がん機序と悪性度規定因子の解明	檜山 英三	広島大学	谷本 圭司	広島大学

【重点プロジェクト課題】

③放射線災害医療開発の基礎的研究(6件)

重3-1	造血幹細胞におけるメチル化ヒストン結合蛋白質 HEMP の機能解析	田久保圭誉	国立国際医療研究センター研究所	本田 浩章	広島大学
重3-2	siRNA ライブラリーを用いた再発小細胞肺癌の治療標的の探索	坂本 修一	微生物化学研究会 微生物化学研究所	河合 秀彦	広島大学
重3-3	The impact of radiation on cardiac mesenchymal stem cell derived exosomes	Yaoliang Tang	Medical College of Georgia, Augusta University	Tao-Sheng Li	長崎大学
重3-4	セファランチンによる間葉系幹細胞を介した放射線照射後の血球回復促進	藤井 紀恵	京都大学	一戸 辰夫	広島大学
重3-5	Development of methods for complex and mobile screening studies of microcirculation vessels and sensory sensitivity of visual system of the population living in the radiation polluted areas	Aleksei Kubarko	Belarusian State Medical University	Naomi Hayashida	長崎大学
重3-6	福島県脳卒中発症調査における電子カルテデータの自然言語処理によるスクリーニングに関する研究	荒牧 英治	奈良先端科学技術大学院大学	大平 哲也	福島県立医科大学

【重点プロジェクト課題】

④被ばく医療の改善に向けた再生医学的基礎研究(9件)

重4-1	電離放射線が間葉系幹細胞の組織修復能・免疫造血制御能に与える影響の検討	三浦 康生	京都大学	一戸 辰夫	広島大学
重4-2	循環器疾患における再生医療に関する研究	梶川 正人	広島大学	東 幸仁	広島大学
重4-3	microRNA を含むエクソソームを用いた組織再生治療の試み	安達 伸生	広島大学	東 幸仁	広島大学
重4-4	心筋細胞機能解析に関する研究	高橋 将文	自治医科大学	東 幸仁	広島大学

整理番号	共同研究課題名	共同研究代表者	共同研究代表者所属機関	受入研究者	受入研究者所属機関
重4-5	血管内皮細胞機能解析に関する研究	田口 明	松本歯科大学	東 幸仁	広島大学
重4-6	ストレス環境下における幹細胞の DNA 損傷応答機構の解明	弓削 類	広島大学	谷本 圭司	広島大学
重4-7	神経細胞機能解析に関する研究	後藤 力	広島国際大学	東 幸仁	広島大学
重4-8	被曝再生医療にむけた腸上皮幹細胞の iPS 細胞からの分化誘導法の確立	横内 裕二	福島県立医科大学	高木 基樹	福島県立医科大学
重4-9	急性放射線障害に対するヒト胎盤由来間葉細胞治療の非臨床有効性検証研究	原 孝光	福島県立医科大学	工藤 崇	長崎大学

【重点プロジェクト課題】

⑤放射線災害における健康影響と健康リスク評価研究(21件)

重5-1	モデル動物を用いた放射線と相関する循環器疾患の研究	高橋 規郎	放射線影響研究所	稲葉 俊哉	広島大学
重5-2	被爆建物設計資料の社会医学的研究への応用可能性の検討	佐藤 裕哉	下関市立大学	瀧原 義宏	広島大学
重5-3	脳虚血に伴うストレス応答物質の解析	酒井 規雄	広島大学	田代 聡	広島大学
重5-4	放射線災害が福島県小児の肥満に及ぼす影響についての要因分析	菖蒲川由郷	新潟大学	大平 哲也	福島県立医科大学
重5-5	広島・長崎の原爆による放射線急性症状の発現確率に関する研究	横田 賢一	長崎大学	保田 浩志	広島大学
重5-6	ABCC/RERF 関連資料を利用した放射線災害による健康影響研究の基礎的研究	飯田香穂里	総合研究大学院大学	久保田明子	広島大学
重5-7	原爆被爆者に関するプルトニウムと内部被曝の研究	七條 和子	長崎大学	保田 浩志	広島大学
重5-8	臨床データの完備した長崎原爆の被爆者研究集団の構築	相川 忠臣	日本赤十字社長崎原爆病院	横田 賢一	長崎大学
重5-9	放射線被ばくに伴う健康不安と妊娠・出産・育児不安が抑うつに与える影響	伊藤 慎也	北里大学	及川 祐一	福島県立医科大学
重5-10	福島県外避難住民の循環器疾患登録方法の確立に関する研究	梅澤 光政	獨協医科大学	大平 哲也	福島県立医科大学
重5-11	血液検査及び鬱指標を用いた心的外傷後ストレス予後評価ツールの開発	清水 悠路	大阪がん循環器病予防センター	大平 哲也	福島県立医科大学
重5-12	広島原爆被爆者における 2 次的被曝影響の地域差分析	富田 哲治	県立広島大学	佐藤 健一	広島大学
重5-13	内部被ばく予測手法の高度化を目指した放射性核種の大気中挙動・起源の解明	平尾 茂一	福島大学	反町 篤行	福島県立医科大学
重5-14	小学児童における睡眠状態とメンタルヘルスとの関連	谷川 武	順天堂大学	大平 哲也	福島県立医科大学

整理番号	共同研究課題名	共同研究代表者	共同研究代表者所属機関	受入研究者	受入研究者所属機関
重5-15	震災前後における生活・経済状況の変化と循環器疾患との関連	野田 愛	順天堂大学	大平 哲也	福島県立医科大学
重5-16	放射線災害における歯科領域への健康影響について	江口 依里	岡山大学	大平 哲也	福島県立医科大学
重5-17	広島・長崎の原爆による放射線急性傷害発現危険度の評価のための方法論的研究	大瀧 慈	広島大学	横田 賢一	長崎大学
重5-18	広島原爆被爆者における非初期放射線曝露による健康影響の統計的評価研究	大瀧 慈	広島大学	保田 浩志	広島大学
重5-19	生物学的線量測定に影響を与える因子の検索	竹石 恭知	福島県立医科大学	田代 聡	広島大学
重5-20	Mobile screening for metabolic and thyroid disorders and other external agents as possible associated factors for persisting thyroid malignancy incidence level	Maxim Lushchik	Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education	Naomi Hayashida	長崎大学
重5-21	ヒトの血液細胞集団におけるエピジェネティック状態の加齢による変化	多賀 正尊	放射線影響研究所	金井 昭教	広島大学

【重点プロジェクト課題】
⑥RIの医療への応用(10件)

重6-1	歯周組織の代謝サイクルの追跡的バイオイメージングとリチウムの影響	佛坂 斉社	長崎大学	西 弘大	長崎大学
重6-2	放射性同位体を用いた肺アスペルギルス症の新たな治療戦略の開発	田代 将人	長崎大学	西 弘大	長崎大学
重6-3	生体イメージング技術を用いた放射線影響の可視化	齋藤 茂芳	大阪大学	久保 均	福島県立医科大学
重6-4	環状オリゴ糖を用いた新規放射性ヨウ素回収・保持システム開発	伊藤 茂樹	熊本大学	松田 尚樹	長崎大学
重6-5	ホウ素中性子線療法に資する PET 薬剤の開発	水田 賢志	長崎大学	西 弘大	長崎大学
重6-6	^{99m} Tc 心筋血流核医学イメージング製剤の胆汁排泄促進法の開発	小林 正和	金沢大学	西 弘大	長崎大学
重6-7	⁹⁰ Y 標識内用放射線治療薬剤の開発－放射線障害メカニズム解析と被ばく低減のための分子設計－	淵上 剛志	長崎大学	西 弘大	長崎大学
重6-8	チミジンホスホリラーゼ画像化によるがんの治療効果予測：動物実験による実証	久下 裕司	北海道大学	久保 均	福島県立医科大学
重6-9	ルテチウム-177 標識抗体を利用したがん治療薬の開発	花岡 宏史	群馬大学	織内 昇	福島県立医科大学
重6-10	アポトーシス関連タンパク質 BCL-2 阻害剤の放射線免疫療法に与える影響	山口 藍子	群馬大学	織内 昇	福島県立医科大学

【自由研究課題】(54件)

F-1	コンディショナルノックアウトマウスを用いた破骨細胞における Cas の機能解析	自見英治郎	九州歯科大学	本田 浩章	広島大学
-----	---	-------	--------	-------	------

整理番号	共同研究課題名	共同研究代表者	共同研究代表者所属機関	受入研究者	受入研究者所属機関
F-2	コンディショナルノックアウトマウスを用いた歯の発生における Cas の機能解析	中富 千尋	九州歯科大学	本田 浩章	広島大学
F-3	ヒストン脱メチル化酵素 Jmjd3 による T 細胞免疫応答制御機構の解析	山下 政克	愛媛大学	本田 浩章	広島大学
F-4	アレルギー性気道炎症における A20 の役割	中島 裕史	千葉大学	本田 浩章	広島大学
F-5	慢性腎臓病における Cas の意義の検討	横井 秀基	京都大学	本田 浩章	広島大学
F-6	骨格筋細胞を標的とした DNA メチル化制御の解明	亀井 康富	京都府立大学	小野 悠介	長崎大学
F-7	トランスサイレンアミロイドーシスの病態解析	三隅 洋平	熊本大学	金井 昭教	広島大学
F-8	筋肉・骨などの運動器における Cas の役割の検討	宮崎 剛	東京都健康長寿医療センター研究所	本田 浩章	広島大学
F-9	ストレスに適応する行動の神経回路基盤	相澤 秀紀	広島大学	川上 秀史	広島大学
F-10	Jmjd3 の大脳新皮質発生における役割の解析	後藤由季子	東京大学	本田 浩章	広島大学
F-11	コンディショナルノックアウトマウスを用いた膀胱における Cas の機能解析	武藤 智	帝京大学	本田 浩章	広島大学
F-12	アスコルビン酸の新たな機能探索	土生 敏行	武庫川女子大学	長町安希子	広島大学
F-13	次世代シーケンサーを用いた口唇裂・口蓋裂の遺伝子解析	柴野 正康	東京歯科大学	吉浦孝一郎	長崎大学
F-14	Electron microscopic study in human adenomyosis	Khaleque Khan	Kyoto Prefectural University of Medicine	Masahiro Nakashima	長崎大学
F-15	53BP1 を用いた非アルコール性脂肪性肝炎における遺伝子不安定性の検討	赤澤 祐子	長崎大学	中島 正洋	長崎大学
F-16	血液悪性疾患におけるヒストン脱メチル化酵素の役割についての解明	河原 真大	滋賀医科大学	金井 昭教	広島大学
F-17	中枢性摂食に関連する膜受容体の機能解析	斎藤祐見子	広島大学	松浦 伸也	広島大学
F-18	甲状腺癌予後規定因子の同定	矢野 洋	長崎大学	光武 範吏	長崎大学
F-19	インプリント座位におけるマルチメチル化異常の原因遺伝子探索	副島 英伸	佐賀大学	吉浦孝一郎	長崎大学
F-20	放射性廃棄物管理と環境修復を学ぶ教育プラットフォームの開発	小野 俊朗	岡山大学	保田 浩志	広島大学
F-21	小児期から成人初期にかけての生活習慣が健診所見とその後の変化に及ぼす影響	山岸 良匡	筑波大学	大平 哲也	福島県立医科大学

整理番号	共同研究課題名	共同研究代表者	共同研究代表者所属機関	受入研究者	受入研究者所属機関
F-22	ストレスや睡眠などと生活習慣病・循環器疾患の発症との関連の他地域との比較	岡田 武夫	大阪がん循環器病予防センター	大平 哲也	福島県立医科大学
F-23	次世代シーケンサーを用いた先天代謝異常症のゲノム解析	渡邊 順子	久留米大学	吉浦孝一郎	長崎大学
F-24	RNA 干渉を利用した胸部悪性腫瘍治療法の開発	服部 登	広島大学	宮田 義浩	広島大学
F-25	A challenging study for establishment of a preoperative diagnostic method for thyroid follicular carcinoma by DNA damage response molecule 53BP1 expression	Saltanat Bolsynbekova	Semey Regional Oncology Center	Masahiro Nakashima	長崎大学
F-26	Association of SNPs with risk for sporadic papillary thyroid carcinoma in Kazakh population	Espenbetova Maira	Semey State Medical University	Masahiro Nakashima	長崎大学
F-27	新規遺伝子変異の関与が疑われる免疫異常症患者における網羅的遺伝子解析と変異遺伝子の機能解析	金澤 伸雄	和歌山県立医科大学	吉浦孝一郎	長崎大学
F-28	東日本大震災後の腰痛と四肢関節痛の有症割合と関連要因に関する疫学研究	陣内 裕成	日本医科大学	大平 哲也	福島県立医科大学
F-29	腫瘍抗原あるいは移植抗原に特異的な免疫制御法の開発	大段 秀樹	広島大学	田代 聡	広島大学
F-30	免疫担当細胞におけるポリコム蛋白質複合体サブユニットなどの機能解析	菅野 雅元	広島大学	本田 浩章	広島大学
F-31	肝癌細胞上皮間葉移行における micro RNA 122 の関連と発現の効果	玉田 陽子	長崎大学	永山 雄二	長崎大学
F-32	低線量放射線による血管機能に及ぼす影響に関する研究	平野 陽豊	静岡大学	東 幸仁	広島大学
F-33	高速シーケンサーを用いた EBV 関連悪性リンパ腫の発症機構の解明	園木 孝志	和歌山県立医科大学	吉浦孝一郎	長崎大学
F-34	リンパ系腫瘍の新規薬剤耐性機序の解明	古川 雄祐	自治医科大学	一戸 辰夫	広島大学
F-35	センダイウイルス V タンパク質とウイルス核酸の認識に関わる複数の宿主因子との相互作用の解析	小田 康祐	広島大学	川上 秀史	広島大学
F-36	炎症シグナルによる遺伝子発現の改変と発がん	鎌田 英明	広島大学	金井 昭教	広島大学
F-37	放射線被ばく医療に関するシミュレーショントレーニングシステム開発	大内 元	琉球大学	高村 昇	長崎大学
F-38	EBV 関連リンパ腫における小分子 RNA の網羅的解析	幸谷 愛	東海大学	金井 昭教	広島大学
F-39	レギュラトリーサイエンスを導入した放射線教育開発	杉田 克生	千葉大学	永山 雄二	長崎大学
F-40	発生、再生過程における遺伝子発現および細胞増殖・分化の制御機構	菊池 裕	広島大学	金井 昭教	広島大学
F-41	メタボリックシンドローム発症における新規因子の同定	浅野知一郎	広島大学	稲葉 俊哉	広島大学

整理番号	共同研究課題名	共同研究代表者	共同研究代表者所属機関	受入研究者	受入研究者所属機関
F-42	A キナーゼアンカータンパク変異体における心筋内カルシウム動態の解明	中野由紀子	広島大学	田代 聡	広島大学
F-43	DNA 損傷応答分子 53BP1 発現による CIN2 予後予測診断マーカーの開発	川下さやか	長崎大学	中島 正洋	長崎大学
F-44	心臓血管系の形成・維持機構の解明	吉栖 正生	広島大学	本田 浩章	広島大学
F-45	造血細胞の細胞周期における増殖分化に関する遺伝子機能の探索	北村 俊雄	東京大学	長町安希子	広島大学
F-46	脳腫瘍の WHO 分類のための遺伝子診断	山崎 文之	広島大学	松浦 伸也	広島大学
F-47	頭頸部癌における網羅的メチル化解析	三澤 清	浜松医科大学	金井 昭教	広島大学
F-48	MLL 白血病の分子メカニズム	横山 明彦	京都大学	金井 昭教	広島大学
F-49	がん細胞の遺伝子発現制御における細胞内代謝の役割	上田 健	近畿大学	金井 昭教	広島大学
F-50	circulating tumor DNA の解析	茶山 一彰	広島大学	金井 昭教	広島大学
F-51	原爆被爆者の放射線関連甲状腺乳頭癌に関するゲノム解析の試行調査	林 奉権	放射線影響研究所	松浦 伸也	広島大学
F-52	ヒト副腎培養細胞株を用いた副腎腫瘍発現遺伝子の機能解析	沖 健司	広島大学	宮本 達雄	広島大学
F-53	肝内胆管癌における上皮間葉転換におけるペリオスチンの役割の検討	菅野 啓司	広島大学	野間 玄督	広島大学
F-54	自然免疫における optineurin の機能解析	福士 雅也	広島大学	川上 秀史	広島大学

平成28年度共同利用・共同研究成果報告

福 1-1

低線量放射線前照射の寿命延長効果における経時的 DNA 修復機構の解明

研究組織

共同研究代表者：岡崎 龍史

(産業医科大学産業生態科学研究所:教授)

共同研究者：盛武 敬

(産業医科大学産業生態科学研究所:准教授)

香崎 正宙

(産業医科大学産業生態科学研究所:講師)

受入研究代表者：鈴木 啓司

(長崎大学原爆後障害医療研究所:准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

福島原発事故の作業者の多くは低線量被曝をしており、その影響を解析することは重要である。低線量被曝影響の科学的証明は困難であるが、放射線適応応答は唯一その影響を解析できる。放射線適応応答は高線量の影響を低線量前照射によって抑制される現象であるが、長期的にみた報告はない。寿命を検証することは、間接的な証明の一つと考えられる。今回、p53 遺伝子改変マウスを用いて、放射線適応応答による寿命への影響を解析する上で、照射時並びに経時的な DNA 修復機構の違い、病理学的死因の解析、さらに p53 遺伝子との関連等について検証し、低線量被曝影響の新しい機序を解明することを目的とした。

今年度は、8 週齢の p53 遺伝子正常マウス及び p53 ヘテロマウスを用いて、対照群、低線量照射群、低線量照射 + 高線量群及び高線量群の 4 群に分けて生存率曲線を解析し、放射線適応応答の現象として寿命延長効果がみられるかどうかを評価した。また、照射後経時的に肺、小腸及び大腸等の臓器を採取し、DNA 修復に関与する 53BP1 並びに細胞増殖と細胞周期のマーカーである Ki-67 について免疫染色を行った。

p53+/+ マウス 8 週齢では 4 時間後には小腸における 53BP1 フォーカスが 0.02+3Gy では 3Gy 単独照射より減少していた。24 時間後には放射線適応応答の現象はみられなかった。p53+/- マウスでは放射線適応応答はみられなかった。

今後は、同様の現象を再確認すると共に、40 週齢程度のマウスで同じような現象がみられるかどうか検証する。

発表論文

- ・岡崎龍史, 福島原発作業者の低線量放射線被曝影響—研究の意義と展望—, 公衆衛生, 80(4): 281-286, 2016

福 1-2

放射線によるクラスター DNA 損傷の生成機構とその生物学的影響

研究組織

共同研究代表者：渡邊 立子

(量子科学技術研究開発機構:上席研究員)

共同研究者：横谷 明徳

(量子科学技術研究開発機構:上席研究員)

受入研究代表者：鈴木 啓司

(長崎大学原爆後障害医療研究所:准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

低線量率・低線量放射線被曝の健康影響を評価する上で重要なことの 1 つに、普段の生理的条件下で起きている内在性 DNA 損傷の存在の考慮がある。細胞内のミトコンドリアにおける ATP 産生の過程で活性酸素が発生し、これが核内 DNA に作用して放射線被曝と同様の DNA 損傷を誘導していることが理解されるようになってきたが、放射線被曝による DNA 損傷と内在性の DNA 損傷とは質的な違いがあるのではないかと懸念が存在する。事実、高 LET 放射線の被曝は、難修復性のクラスター DNA 損傷と呼ばれる DNA 多重損傷を誘発するとされている。そこで本研究では、クラスター DNA 損傷の生成機構とその生物学的意義について解明する共同研究を計画した。

クラスター DNA 損傷は、DNA 二重鎖切断に塩基損傷などの複数の DNA 損傷が重複して誘導されることにより成立する。技術的な限界から、現時点でクラスター DNA 損傷を直接的に可視化することは不可能であるが、クラスター DNA 損傷内に DNA 二重鎖切断が存在する場合、DNA 二重鎖切断の修復が遅延し、放射線被曝後も長期間残存すると考えられ、したがって、残存 DNA 二重鎖切断を検出することによって、間接的にクラスター DNA 損傷を検出することが可能になる。

本年度は、放射線照射正常ヒト二倍体細胞において、DNA 損傷応答因子のフォーカスにより DNA 二重鎖切断を検出し、クラスター DNA 損傷を間接的に評価した。特に、G1 期および G2 期にある細胞に低線量放射線を照射した後、異なった高次様態をとるクロマチンにおけるクラスター DNA 損傷の誘導を検討して、クラスター DNA 損傷生成に至るプロセスをシミュレーションするのに必要な基礎的データを収集した。

発表論文

Ritsuko Watanabe, Yuya Hattori, Takeshi Kai.
Evaluation of DNA damage induced by Auger electrons
from Cs-137. Int J Radiat Biol, 92, 660 - 664, 2016.

福 1-3

高感度突然変異検出系を用いた放射線影響解析

研究組織

共同研究代表者：田内 広

(茨城大学理学部：教授)

受入研究代表者：鈴木 啓司

(長崎大学原爆後障害医療研究所：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線被ばくにより誘導された DNA 損傷が、放射線影響の原因になる遺伝子突然変異を生成することは広く知られた事実である。しかしながら、放射線エネルギーの直接的な吸収による標的影響としての突然変異とは別に、放射線に直接暴露してはいないが、同じ照射野の中に存在していた細胞中にかかる非標的影響としての突然変異の生成がある。特に、低線量放射線被ばくにおける不均一な線量分布を考慮すると、非標的影響としての突然変異の生成の有無を明らかにすることは、低線量放射線の影響を理解する上で、極めて重要な研究課題となる。そこで本研究では、既に樹立している高感度突然変異検出系を応用し、非標的影響としての突然変異生成の可能性について検証することを目的とした。

本年度は、樹立した高感度突然変異検出系を用いて、0.5Gy 以下の低線量の X 線を照射し、突然変異誘発の線量依存性の確認を継続した。また、本実験系では大規模欠失が変異体として検出されるため、突然変異細胞における HPRT 遺伝子を含む欠失領域を解析するために 6-チオグアニン耐性コロニーを単離し、各クローンから高分子 DNA を抽出し、受入れ研究者と共同して PCR 法によるヒト X 染色体の欠失領域の解析を進めてゆくための検討に着手した。今後は具体的な解析を進めるとともに、実験系の改善についても検討を進める予定である。

発表論文

なし

福 1-4

ミトコンドリア異常を指標とした低線量放射線影響評価

研究組織

共同研究代表者：志村 勉

(国立保健医療科学院 生活環境研究部：上席主任研究官)

受入研究代表者：笹谷 めぐみ

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

我々は低線量放射線影響の解明を研究目的とし、ヒト正常線維芽細胞を用いてミトコンドリア酸化損傷を指標とした放射線による酸化ストレスについての解析を進めている。エネルギー代謝を制御するミトコンドリアは、放射線応答に必要なエネルギーを供給する重要な働きを持つ。エネルギー生産の過程で発生する活性酸素は、Superoxide dismutase (SOD) や抗酸化物質グルタチオンの働きにより無毒化される。1 回当たり 0.01 または 0.05Gy の低線量で 1 月間の長期分割照射（総線量 0.46 または、2.3Gy）では、慢性的な DNA 損傷応答が誘導され、ミトコンドリアの呼吸機能の亢進と抗酸化物質グルタチオン量の低下により、細胞内の活性酸素量が増加する。結果として、長期分割照射をした細胞では、過剰な活性酸素が発生源の近傍にあるミトコンドリアに酸化損傷を誘導することを明らかにした。我々は、さらに、ヒト神経幹細胞と分化した神経細胞で、組織幹細胞と分化した細胞で放射線によるミトコンドリア酸化損傷を比較検討した。神経細胞は、上記の線維芽細胞と同様に、放射線でミトコンドリアの酸化損傷が誘導される。一方、神経幹細胞は、長期分割照射に対して抵抗性を示し、活性酸素の発生やミトコンドリア酸化損傷が誘導されないことを明らかにした。酸化ストレスは、発がん、老化、様々な疾病（糖尿病、メタボリックシンドローム、心疾患、神経疾患など）の原因となることから、放射線発がん、非がん影響評価において、ミトコンドリア酸化損傷の解析が重要であると考え。低線量の健康影響の科学的解明は学術的に重要であるのみならず、福島原発事故で懸念されている健康影響評価においても必要であると考え。

発表論文

- (1) Shimura T, Sasatani M, Kawai H, Kamiya K, Kobayashi J, Komatsu K, Kunugita N. A comparison of radiation-induced mitochondrial damage between

neural progenitor stem cells and differentiated cells. Cell Cycle 16: 565-573, 2017.

- (2) Shimura T. Targeting the AKT/cyclin D1 pathway to overcome intrinsic and acquired radioresistance of tumors for effective radiotherapy. Int J Radiat Biol. 2: 1-5, 2016.

福 1-5

低線量率放射線誘発細胞応答における酸化ストレスの関与

研究組織

共同研究代表者：小林 純也

(京都大学放射線生物研究センター：准教授)

共同研究者：林 幾江

(広島大学医歯薬保健学研究院：助教)

斎藤 裕一朗

(京都大学放射線生物研究センター：研究員)

受入研究代表者：松浦 伸也

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

電離放射線により DNA 二本鎖切断 (DSBs) 損傷が発生すると、DSB 損傷は細胞死にもいたる重篤な損傷のため、損傷 DNA は即座に細胞に検知され、細胞周期の進行を停止して損傷 DNA の修復が行われる。また、電離放射線は細胞内で活性酸素種 (ROS) の増加をもたらすが、その放射線生物影響への寄与、発生メカニズムは不明な点が多い。特に低線量 (率) 放射線暴露では、DSB 損傷はほとんど生成されず、ROS の産生が生物影響の大部分を占める可能性が高く、本研究ではこのような低線量率放射線照射時に、ROS を介した生物影響の実体・そのメカニズムをヒト細胞で明らかにすることを目的として研究を行った。

高線量率放射線照射では ROS の生成が以前から報告されていたが、低線量率照射ではヒト正常細胞では ROS の増加が見られたが、がん細胞では ROS 産生は認められなかった。また、正常細胞での ROS 増加は照射 1 日後でも残存していた。この時の DSB 損傷生成を γ H2AX で検討すると、低線量率照射終了直後、1 日後ともに γ H2AX の誘導は見られず、この ROS 蓄積は DSB 損傷とは無関係であることが示唆された。細胞内での ROS の最大の発生源はミトコンドリアであることから、MitoTracker でミトコンドリア量を検討すると ROS の増加が見られる低線量率照射でのみミトコンドリア量の増加が認められた。これらの結果からミトコンドリアが低線量率照射時の ROS 発生源と考えられ、今後、ミトコンドリアからの ROS 産生メカニズム、その影響を明らかにする必要がある。

発表論文

ありません。

福 1-6

ヒト iPS 細胞の染色体安定化機構と放射線の影響に関する研究

研究組織

共同研究代表者：嶋本 顕

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院：准教授)

受入研究代表者：河合 秀彦

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

【研究内容】

ヒト二倍体正常線維芽細胞 MRC-5, TIG-3 から樹立された iPS 細胞は、線維芽細胞と比較して 5Gy の X 線照射に対して放射線高感受性を示し、iPS 細胞におけるミトコンドリアの高いプライミング状態がこの要因と考えられる。本年度はミトコンドリアのプライミング状態に関与する BH3 only タンパク質の発現解析を行った。

【研究成果】

iPS 細胞における BH3 only タンパク質の発現レベルは線維芽細胞と比較して非常に高い。線維芽細胞に山中 4 因子を発現するセンダイウイルスを感染させ、iPS 細胞誘導条件下で培養して BH3 only タンパク質 mRNA の経日の発現レベルの変化を調べた。その結果、Puma, Noxa, 及び Bmf の発現は、リプログラミング過程初期においてバリアとして一過的に誘導される p53, p21, 及び p16 と同様に、山中 4 因子感染後およそ 1 週間で上昇し、リプログラミング後期の 3 週間後以降に低下したが、線維芽細胞よりも高い発現レベルで維持された。一方、Hrk 及び Bim は多能性遺伝子 OCT3/4 及び Sox2 と同様にリプログラミング過程中期から後期にかけて徐々に上昇した。これらの結果から、iPS 細胞におけるミトコンドリアの高いプライミング状態はリプログラミングの過程で誘導されることが明らかとなった。そして、iPS 細胞の X 線障害に対するアポトーシスを引き起こしやすい状態は、多能性・未分化性の獲得に伴って誘導され、これらの形質にリンクした多能性幹細胞の重要な性質であることが示唆された。

【今後の展望等】

iPS 細胞では線維芽細胞と比較してミトコンドリアが高いプライミング状態にあるだけでなく、DNA 損傷応答も強く引き起こされる。したがって今後は、iPS 細胞の X 線高感受性における DNA 損傷応答の役割について検討する予定である。

発表論文

該当なし

福 1-7

**若年者甲状腺がん発症関連遺伝子群の同定
と発症機序の解明**

研究組織

共同研究代表者：鈴木 眞一

(福島県立医科大学・甲状腺内分泌:教授)

共同研究者：福島 俊彦

(福島県立医科大学・甲状腺内分泌:准教授)

鈴木 聡

(福島県立医科大学・甲状腺内分泌:講師)

受入研究代表者：光武 範吏

(長崎大学原爆後障害医療研究所:准教授)

受入研究者：山下 俊一

(長崎大学原爆後障害医療研究所:教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

これまでに、福島県立医科大学で手術された146例の若年者甲状腺癌試料より核酸を抽出し、既知の遺伝子変異を解析した。また、既知の遺伝子変異を持たない症例に対し、細胞外ドメインとキナーゼドメインの mRNA 発現量を比較するスクリーニングを行い、これまでのところ3例に新規の融合癌遺伝子 *SQSTM1/NTRK3*, *AFAP1L2/RET*, *PPFIBP2/RET* を発見し、これを報告した。

発表論文

Iyama K, Matsuse M, Mitsutake N, Rogounovitch T, Saenko VA, Suzuki K, Ashizawa M, Ookouchi C, Suzuki S, Mizunuma H, Fukushima T, Suzuki S, Yamashita S

Identification of Three Novel Fusion Oncogenes, *SQSTM1/NTRK3*, *AFAP1L2/RET*, and *PPFIBP2/RET* in Thyroid Cancers of Young Patients in Fukushima

Thyroid, Epub, 2017

福 1-8

高感度 DNA 損傷分析による低線量・低線量率放射線生物影響の分子機構解明

研究組織

共同研究代表者：寺東 宏明

(佐賀大学総合分析実験センター：准教授)

共同研究者：徳山 由佳

(佐賀大学総合分析実験センター：教務員)

近藤 敏弘

(佐賀大学総合分析実験センター：教務員)

受入研究代表者：保田 浩志

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、平成 23 年に発生した福島第一原子力発電所事故により想定される低線量（率）放射線による生物影響を分子レベルで解明することを目的とするものであり、低線量（率）放射線による DNA 損傷と生物効果の関係について、DNA 損傷の高感度微量解析法を技術開発することにより、前述の目的を達成するものである。

今年度は、放射線特異的損傷であるクラスター DNA 損傷（酸化塩基損傷や鎖切断が複数局在した損傷様態）の高感度検出法の検討を行った。アルデヒド反応性プローブ（ARP）法による酸化塩基損傷検出（Terato 2008）を元に、DNA 抽出法の改良、検出手法の改良により、従来までの 10^6 塩基レベルの検出感度を 10^7 塩基レベルまで 10 倍高感度化することが出来た。この手法を用いて、低線量（率）ガンマ線照射装置にて、培養細胞に対し、1Gy/day の照射実験を行い、細胞生存率、ARP 法による酸化塩基損傷分析、SFGE 法によるクラスター DNA 損傷の 3 つの分析を行っている。低線量（率）照射により、細胞生存率は若干の低下傾向が観察されたが、照射中に細胞増殖が認められたため、DNA 損傷評価では、その差分を出す必要があることがわかったことから、現在その再評価を行っている。

今後は、低線量（率）放射線損傷評価を確実に行う実験計画の再検討を行うとともに、異なる線量率の低線量（率）照射実験を行い、低線量（率）放射線による DNA 損傷の生成動態を解明する。

発表論文

Srimawong P, Sawajiri M, Terato H, Maruyama K, Tanimoto K: (2016) Effects of carbon ion irradiation via periostin on breast cancer cell invasion of the

microenvironment. J Radiol Radiat Therapy, 4(1): 1060 (2016. 10).

福 1-9

消化管における EdU 陽性細胞と DNA 損傷保持

研究組織

共同研究代表者：大塚 健介

(一般財団法人電力中央研究所：主任研究員)

受入研究代表者：鈴木 啓司

(長崎大学原爆後障害医療研究所：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本共同研究は、組織幹細胞に着目して、消化管における DNA 損傷の蓄積と排除を検討し、LNT モデルの成立基盤を検証することを目的としている。本年度は、組織幹細胞および子孫細胞における DNA 障害を時空間的に追跡する目的で、消化管幹細胞を EdU 標識により識別する実験を継続した。具体的には、チミジンのアナログである 5-エチニル-2'-デオキシウリジン (EdU) を腹腔内に投与し、一定期間飼育した後に消化管クリプトを回収して、EdU 標識細胞をフローサイトメーターにより効果的に検出する条件の検討を行った。また、Lgr5 発現陽性幹細胞に対し、放射線被ばくによる DNA 損傷の経時変化を評価するために、フローサイトメーターで評価可能な γ -H2AX 抗体染色を行って蛍光強度の分布を取得し、蛍光強度の高い分画をソーティングして蛍光顕微鏡により観察したところ、蛍光強度を反映して核内に DSB フォーカスが検出され、幹細胞における DSB の評価が可能になった。今後は γ -H2AX の蛍光と 53BP1 の一致性を確認し、EdU 保持細胞と DNA 損傷修復の関係を画像解析とフローサイトメーターの両面から効率的に解析する基盤を構築する。

発表論文

なし

福 1-10

低線量被ばくによるゲノム障害に対する修復機構の造血システムにおける使い分けの解析

研究組織

共同研究代表者：大坪 素秋

(別府大学食物栄養科学部：教授)

受入研究代表者：瀧原 義宏

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

受入研究者：大野 芳典

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

従来から造血システムに対する放射線被ばくの影響について多くの解析がなされてきたが、その多くが高線量率被ばくの影響について解析されたものであった。申請者は受け入れ研究者とのこれまでの共同研究により、造血システムの低線量放射線被ばくによって造血幹細胞が特異的に減少することを見出してきたが、造血システムの細胞周期に対する影響や各分化段階におけるゲノム損傷応答の分子レベルでの相違については未だに明らかにできていない。そこで、低線量被ばくの細胞周期に対する影響とゲノム障害に対する修復機構の造血システム各段階の細胞における相違がどの様に制御されているかを明らかにする本研究を計画した。まず本年度は、 G_0/G_1 期と $S/G_2/M$ 期を見分けることのできる Geminin-EYFP ノックインマウスを低線量率放射線照射下で飼育して、低線量率放射線被ばくが造血幹細胞の細胞周期にどのような影響を与えるかについて解析した。さらに、低線量率放射線照射下で飼育したマウスから未分化造血細胞 (c-Kit⁺, Sca-1⁺, Lineage⁻: KSL 細胞) と造血前駆細胞を分取し、免疫染色法を用いて修復機構のマーカー分子の発現を解析し、低線量率放射線被ばくによって誘導されるゲノム損傷に対する修復機構の差異を比較・検討した。その結果、低線量率放射線被ばくは造血幹細胞の細胞周期に大きな影響を与えないことが解った。しかし、造血前駆細胞は相同組換え修復機構と非相同末端結合修復機構の両方によって損傷ゲノムの修復が行われているのに対して、KSL 細胞においては非相同末端結合修復機構のみで修復が行なわれていることが解った。このことは低線量率放射線被ばくが造血幹細胞に対してより特異的にゲノム異常を引き起こしていることが推測され、低線量率放射線被ばくによって造血幹細胞が特異的に減少する分子基盤を考える上で興味深い。今後は、低線量率放射線被

ばくによって引き起こされるゲノム損傷に対する修復機構において造血幹細胞と造血前駆細胞にどのような差異があるのかを検証し、造血システムにおけるゲノム修復機構の使い分けについて詳細な解析を進める計画である。

発表論文

Manipulation of Cell Cycle and Chromatin Configuration by Means of Cell-Penetrating Geminin. Ohno Y, Suzuki-Takedachi K, Yasunaga S, Kurogi T, Santo M, Masuhiro Y, Hanazawa S, Ohtsubo M, Naka K, Takihara Y. PLoS One. 11(5): e0155558. 2016.

Role of Geminin in cell fate determination of hematopoietic stem cells (HSCs). Yasunaga S, Ohno Y, Shirasu N, Zhang B, Suzuki-Takedachi K, Ohtsubo M, Takihara Y. Int J Hematol. 104(3): 324-9. 2016.

福 1-11

The impact of radiation accidents factors on the pregnancy and the subsequent development of children after exposure in utero.

Research Organization:

Representative Joint Researcher: Alexander Stojarov (Professor: Department of Radiation Medicine & Ecology Belarusian State Medical University, Belarus)

Joint Researcher Takahashi Jumpei (Assistant Professor: Center for International Collaborative Research, Nagasaki University, Japan)

Representative Resident Researcher: Naomi Hayashida (Professor: Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University, Nagasaki, Japan)

Resident Researcher: Satoshi Tashiro (Professor: Research Institute for Radiation Biology and Medicine, Hiroshima University, Hiroshima, Japan)

Resident Researcher: Akira Ohtsuru (Professor: Fukushima Global Medical Science Center, Fukushima Medical University, Fukushima, Japan)

Contents, Results, and Prospects of Study:

A cohort of women has been formed (N=224). In April 1986, they were at various stages of pregnancy and were irradiated with I-131. The average age of women in April 1986 was 25.0 (22.0-30.0) years. The average adsorbed dose (D) to the thyroid gland was 0.53 (0.18-0.63) Gy. A cohort of children (N=124), who were born from these women, was formed. The incidence of women in the main classes of diseases ICD-10 is analyzed. It was found that statistically differences between the groups of irradiated women (0-0.3 Gy, 0.31-1.0 Gy and > 1.0 Gy) are revealed 20 years after Chernobyl accident. Most of the changes concern the diseases of the circulatory system, as well as mental disorders, diseases of the nervous and digestive systems. Among cardiovascular diseases, the frequency of hypertension is increasing. Irradiation with iodine in different trimesters of pregnancy has little effect on the subsequent incidence of women. When studying the dose dependence for different types of pathology, it was found that the incidence rate had pronounced dose maxima. Most of them lie in the range 0.2-0.3 Gy. Psychometric

analysis showed the highest incidence of sleep disorders and obsessive memories of past experiences. The psychological distress assessed by the K-6 test had a weak correlation with the main factors of post-traumatic stress disorder (PCL-S test). In the future, it is planned to analyze the relationship between the doses of the mother and the incidence of their children. Publications on the received data are being prepared.

福 1-12

低線量率被ばくに対する造血システムの単一細胞レベルでの分子応答の解析

研究組織

共同研究代表者：安永 晋一郎

(福岡大学医学部生化学講座：教授)

共同研究者：白須 直人

(福岡大学医学部生化学講座：講師)

瀬川 波子

(福岡大学医学部生化学講座：准教授)

芝口 浩智

(福岡大学医学部生化学講座：講師)

山田 博美

(福岡大学医学部生化学講座：技術職員)

受入研究代表者：瀧原 義宏

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

受入研究者：大野 芳典

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線被ばくにおいて造血組織は最も影響を受け易い組織の一つとして知られている。造血組織に対する放射線被ばくの影響についての多くの研究が行われているが、そのほとんどは高線量・高線量率放射線被ばくについてであり、低線量・低線量率放射線被ばくの造血システムに対する影響については充分には解明されていない。東電福島第一原子力発電所事故による放射性物質汚染の問題から低線量放射線被ばくによる健康被害について世界的に注目が集まっており、低線量放射線被ばくの研究は急務を要する。そこで申請者は低線量被ばくの造血システムに対する影響を単一細胞レベルでの分子応答を解析することで明らかにする研究を計画した。原爆放射線医科学研究所の放射線先端医学実験施設の低線量率ガンマ線照射装置を用いて、低線量率放射線照射下で C57BL/6NJcl マウスを 1 か月から 2 か月飼育し、FACS Aria を用いて造血幹細胞を分取した。分取した造血幹細胞を単一細胞遺伝子発現解析装置を用いて、1 細胞の各々におけるアポトーシスや細胞生存関連遺伝子群、さらに造血幹細胞の機能制御遺伝子群などの発現を詳細に解析した。その結果、低線量・低線量率被ばくによって特異的に発現が変化する遺伝子群の存在を明らかにした。今後、これらの遺伝子が特異的に発現変化する生物学的意義と発現変化に至る分子機序について詳細な解析を進め、低線量・低線量率被ばくに対する造血システムの分

子応答について理解を深める計画である。

発表論文

- 1) Manipulation of Cell Cycle and Chromatin Configuration by Means of Cell-Penetrating Geminin. Ohno Y, Suzuki-Takedachi K, Yasunaga S, Kurogi T, Santo M, Masuhiro Y, Hanazawa S, Ohtsubo M, Naka K, Takihara Y. PLoS One. 11(5): e0155558. 2016.
- 2) Role of Geminin in cell fate determination of hematopoietic stem cells (HSCs). Yasunaga S, Ohno Y, Shirasu N, Zhang B, Suzuki-Takedachi K, Ohtsubo M, Takihara Y. Int J Hematol. 104(3): 324-9. 2016.

福 1-13

マウスの最新データから見る DNA の損傷・回復の数理的モデルからの検討

研究組織

共同研究代表者：真鍋 勇一郎

(大阪大学：助教)

共同研究者：坂東 昌子

(大阪大学：協同研究員)

和田 隆宏

(関西大学：教授)

受入研究代表者：鈴木 啓司

(長崎大学原爆後障害医療研究所：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線の生体影響はリスク防護の観点では閾値無しで総線量に比例するモデル（LNT モデル）によって評価されるが、科学的観点では生体の修復機能の存在が近年明確になり、線量率効果の重要性が指摘されている。物理学者である真鍋、坂東、和田らは、生体影響の線量率依存性を定量的に評価できる数理モデル（モグラたたきモデル）を構築し、過去に行われた動物や植物の突然変異に関する多くの実験データを再現に成功した。

今年度は、鈴木らがマウスに放射線を照射しフォーカス形成をマーカーとして DNA 障害を測定した実験結果をモグラたたきモデルで解析し、損傷の回復効果へのモデルの適用性を研究する分野横断研究を実施した。

発表論文

福 1-14

Assessment of the health risks of internal exposure from low dose ^{137}Cs around Chernobyl**Research Organization :**

Representative Joint Researcher: Alexander Gutevich (Vice-Director: Zhitomir Inter-Area Medical Diagnostic Center in Korosten, Ukraine)

Joint Researcher: Sergiy Chorniy (Director: Zhitomir Inter-Area Medical Diagnostic Center in Korosten, Ukraine), Jumpei Takahashi (Assistant Professor: Center for International Collaborative Research, Nagasaki University, Japan), Shigeki Minami (Department-Chair, Surgical Department, Nagasaki Harbor Medical Center, City Hospital, Japan), Izumi Yamaguchi (Assistant Professor: Division of Strategic Collaborative Research, Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University, Nagasaki, Japan)

Representative Resident Researcher: Naomi Hayashida (Professor: Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University, Nagasaki, Japan)

Contents, Results, and Prospects of Study

In spite of the fact that the level of ^{137}Cs concentration is very low, ^{137}Cs has been still detected in residents around the Chernobyl Nuclear Power Plant (CNPP). Although the health risks of internal exposure to ^{137}Cs remain unclear, some clinical doctors insist the function of digestive organs of children decreased after the accident. Based on this situation, it is necessary to evaluate the relationship between the health status (especially the disease of stomach) and the body burden of ^{137}Cs in inhabitants around the CNPP.

1303 habitants in Zhitomir region, Ukraine participated in this study. All habitants enrolled in this study referred to Zhitomir Inter-Regional Diagnostic Center (Korosten, Ukraine). They undergone screening by gastric endoscopy, whole body counter and blood test. We also collected the information including sex, age, height, weight, address, medication, status of food intake and the date of examination.

Of the 1303 participants, 63.4% were women and mean age is 49 years (range from 15 years to 94 years). Among

the 1303 habitants tested, internal exposure with Cs-137 was detected in 171 participants (13.1%). The mean level of Cs-137 was 1631Bq/body (range from 786 to 3995 Bq/body). In endoscopic examination we diagnosed some findings in 1291 participants. 12 participants have normal findings in endoscopy and internal exposure with Cs-137 was detected in two of them.

In the future, it is planned to analyze the relation between the findings of gastric endoscopy or the result of blood test and the internal exposure of Cs-137.

Presented papers

Being prepared.

福 1-15

放射線災害時における低線量電子スピン共鳴 (ESR) 被ばく測定法を用いた長崎原爆被爆者及び福島川内村住民の被ばく線量推定

研究組織

共同研究代表者：島崎 達也

(熊本大生命資源研究・支援センター：助教)

共同研究者：後藤 久美子

(熊本大生命資源研究・支援センター：特任助教)

白石 善興

(熊本大生命資源研究・支援センター：技術専門職員)

岡田 誠治

(熊本大生命資源研究・支援センター：教授)

受入研究代表者：松田 尚樹

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

受入研究者：横田 賢一

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、(1) 長崎大原医研に 1986 年より収集、保管されている原爆被爆者の抜歯試料の再調査を行い、現時点で 208 名の方より 343 本の歯が収集されたことを確認するとともに、178 名 268 本の試料が測定可能な歯であることが分かった。また、103 名 157 本の抜歯試料が ESR 測定未実施であることが分かった。現在、(2) 30 本の抜歯試料の線量評価を実施している。今までに、低線量被ばく評価に重要な要素である自然放射線レベルや医療被ばくによる影響の研究結果が得られている。

今後は、長崎原爆被爆者の抜歯試料を順次 ESR 測定を行うとともに、低線量と考える遠距離被爆者についての ESR 線量評価を実施する。また、歯エナメル線量から人体の甲状腺線量や実効線量への換算係数を求めるための基礎実験を行う。

発表論文

- 1) 島崎達也、川原 修、白石善興、後藤久美子、古嶋昭博、岡田誠治：ESR 線量測定法を用いた低線量被ばく線量評価の検討、第 49 回保健物理学会講演要旨集、74、2016。
- 2) Tatsuya Shimasaki, Kenichi Yokota, Mariko Mine, Yoshioki Shiraishi, Kumiko Gotoh, Naoki Matsuda and Seiji Okada : Radiation dose estimation by ESR dosimetry with tooth enamel for survivors of the

atomic bomb of Nagasaki, The 1st International Symposium of the network-type Joint Usage/Research Center for Radiation Disaster Medical Science, Hiroshima, 57, 2017.

福 1-16

低線量率放射線被ばくに対する組織応答特異性の解析

研究組織

代 表 者：中村 麻子

(茨城大学理学部：准教授)

受入研究者：笹谷 めぐみ

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

同じ線量の放射線照射であっても、線量率が低い場合はその生物効果が減少すると考えられている。放射線被ばくにおける臓器特異的影響はこれまでいくつか報告があるが、放射線誘発 DNA 損傷レベルについて線量率の違いがどのような影響を与えるか、放射線誘発 DNA 損傷レベルの経時的な変化について臓器間での違いが認められるのか、さらには線量率の変化が細胞老化反応や炎症反応など発がんに関与する様々な細胞組織応答にどのように影響するのかなどについてはいまだ明確ではない。線量率の違いによる臓器特異的細胞組織応答の変化を評価することは、発がんリスクを理解するうえでも重要だと考えられることから、本研究では DNA 損傷マーカーであるリン酸化型ヒストン H2AX (γ -H2AX) を用いて放射線誘発 DNA 損傷レベルのモニタリングを行った。平成 28 年度は、これまでに得られている C57BL/6 雌マウスに総線量 10Gy (線量率は 4Gy/day, 1Gy/day, 0.25Gy/day の 3 種) の γ 線照射を行った後に摘出された各種マウス臓器について、引き続き γ -H2AX 抗体を用いた蛍光免疫染色法による解析を行った。

細胞増殖が盛んな脾臓および小腸では、低線量率放射線被ばくであっても顕著な DNA 損傷レベルの増加が認められた。具体的には 0.25Gy/day の照射マウスサンプルでは非照射マウスサンプルと比較して顕著な γ -H2AX レベルの増加が認められた一方で (γ -H2AX の陽性細胞率が 7 % 程度から 50 % 程度まで増加)、0.25Gy/day サンプルと 1Gy/day サンプル間ではほぼ同程度の γ -H2AX レベルであった (有意差は検出されなかった)。このことは、脾臓や小腸では、他の臓器に比べ低線量率であっても放射線被ばくの影響が強いことを示唆している。これまでの研究から、脾臓では放射線によって生じた DNA 損傷が修復されたのちに二次的な DNA 損傷応答の活性化を示し、この二次的 DNA 損傷応答が発がんリスクに強く影響していることが明らかとなっていることから、低線量率被ばくによって高

レベルの DNA 損傷が検出された脾臓では、高線量率と同じように二次的 DNA 損傷応答の活性化が生じている可能性がある。今後、長期的なサンプル解析により、低線量率感受性臓器における放射線応答を明確にし、臓器依存的な発がんリスクの明確化につなげたい。

発表論文

なし

福 1-17

低線量放射線被ばくによる乳腺幹細胞への影響解析

研究組織

共同研究代表者：今岡 達彦

(量研機構放医研：チームリーダー)

受入研究代表者：飯塚 大輔

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

原爆被爆者の疫学調査より、乳腺は発がんリスクの高い臓器の一つとして知られている。乳腺幹細胞は、発がんの重要な標的細胞の一つであり、近年、ヒト、マウスを材料としてその解明が急速に進んでいる。申請者は放射線誘発乳がんの優れたモデル動物であるラットを用いて、そのリスクの年齢、線質依存性の評価や、低線量影響を評価する遺伝子改変モデルの作製を行っている。しかし乳腺幹細胞の発がんへの関与を明らかにするに至っていない。そこで、マウス乳腺幹細胞の評価系を立ち上げている原医研と共同でラット評価系の構築を行い、最終的には乳腺幹細胞の低線量・低線量率放射線発がんへの関与の有無を明らかにすることを目標としている。

マウスにおける乳腺幹細胞を含む細胞集団の同定はこれまで多くの研究者によって明らかにされており、原医研・飯塚大輔博士も評価系の確立をすでに行っている。一方、ラットでは1つの報告があるが、自作の抗体を用いているため、再現性には不明な点が多い。そこでCD24、CD29、CD49f、CD61等の表面抗原に対する市販の抗体を購入し、評価系の確立の可能性を探ることを目的とした。本年度は、ラット乳腺細胞の調製法を確立するとともに、使用可能な抗体を見つけた。

今後は、使用可能な抗体のスクリーニングを継続するとともに、照射したラット乳腺細胞における幹細胞系の動態を解析する。

発表論文

今岡達彦, 高昌賢, 鶴岡千鶴, 西村由希子, 飯塚大輔, 島田義也, 柿沼志津子. 乳腺の幹細胞系:細胞表面マーカーと細胞系譜追跡の研究から. 乳癌基礎研究 (印刷中)

福 1-18

発がん高感受性モデルマウスを用いた低線量・低線量率発がんリスク評価

Research Organization :

Representative Joint Researcher: Jianxiang Li (Associate Professor, Department of Toxicology, School of Public Health, Medical College of Soochow University)

Representative Resident Researcher: Kenji Kamiya (Professor, Research Institute for Radiation Biology and Medicine, Hiroshima University)

Resident Researcher: Megumi Sasatani (Assistant Professor, Research Institute for Radiation Biology and Medicine, Hiroshima University)

Contents, Results, and Prospects of Study

The estimation of cancer risk induced by radiation especially at low dose and low dose rate is one of great concern in the world. It is still controversial that a mechanistic understanding of carcinogenesis induced by radiation of low dose and low dose rate is required for accurate estimation of cancer risk following irradiation exposure. *Apc^{Min/+}* mouse is known as the powerful tool for analyzing tumor development and is susceptible to radiation. Loss of wild-type Apc is necessary to develop intestinal tumor in *Apc^{Min/+}* mice. In C57BL/6 (B6) *Apc^{Min/+}* mice model, loss of Apc function might occur by loss of heterozygosity (LOH) through somatic recombination. In this study, we explored whether chromosomal divergence influences dose rate effect on radiation-induced carcinogenesis by analyzing the mechanism of loss of wild-type Apc function. We find that mitotic recombination is suppressed to various degrees in intestinal tumors derived from hybrids of distantly related mouse strains regardless of irradiation. Our data imply that mitotic recombination acts as a modifier of radiation-induced cancer susceptibility by limiting the rate of LOH.

In the future, we want to explore the changes of RNA expression level to analyze the relationship of LOH and chromosomal recombination following low dose and low dose-rate radiation exposure.

Presented paper

We are writing the manuscript to our data now.

福 1-19

低線量率被ばくによる免疫担当細胞の発生・分化異常の解析

研究組織

共同研究代表者：菅野 雅元

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院：教授)

共同研究：郭 芸

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院：助教)

Kong Weng Sheng

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院：助教)

受入研究代表者：瀧原 義宏

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

受入研究者：大野 芳典

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線被ばくにおいて造血組織は最も影響を受け易い組織の一つとされ、被ばく後の急速な免疫機能の低下が知られているが、低線量率放射線の影響については未だにほとんど知見が得られていない。そこで申請者は、低線量率被ばくによる免疫担当細胞への影響を詳細に解析する本研究を計画した。まず本年度は低線量率ガンマ線照射装置を用いて、低線量率放射線下で C57BL/6Njcl マウスを 1 か月飼育し、被ばくしたマウスから胸腺と脾臓を採取し、FACSCantoII を用いて免疫担当細胞について解析した。さらに、低線量率放射線被ばくしたマウスから未分化造血細胞である c-Kit⁺ Sca1⁺ lineage marker⁻ (KSL) 細胞を分取して移植を行い、低線量率放射線被ばくした造血幹細胞から分化した免疫担当細胞について解析を行った。その結果、低線量率放射線被ばくしたマウスの胸腺と脾臓に含まれる免疫担当細胞には大きな影響は認められなかったが、低線量率放射線被ばくした造血幹細胞からはリンパ球系細胞が十分に分化しないことが解った。今後は、アポトーシスや細胞生存関連遺伝子群、さらに免疫担当細胞の発生分化を担う遺伝子群の発現について単一細胞レベルで解析し、分化異常が生ずるに至る分子機序について詳細な解析を進める計画である。

発表論文

本年度は発表論文なし

福 1-20

放射線応答細胞を系統的可視化するためのノックインマウスの作出と、それを用いた放射線発がん標的細胞の同定

研究組織

共同研究代表者：星 裕子

(電力中央研究所 原子力技術研究所 放射線安全研究センター：主任研究員)

受入研究代表者：本田 浩章

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

研究内容：本共同研究課題の目的は、放射線応答細胞の運命を追跡するマウスを新たに確立して、放射線発がんの標的細胞を同定することで、放射線発がん機構を解明することである。放射線応答のマーカーとしては、様々な組織での S/N 比が高いとされる p21 を用い、ハプロ不完全性遺伝子であることを考慮して、ノックイン (KI) マウスを作出した。得られたキメラマウスからヘテロマウスを複製し、Cre による組換えで可視化レポーター遺伝子が発現するレポーターマウスと、KI マウスを掛け合わせることで、放射線応答細胞を系統的に可視化できるノックインマウスを作製する。

研究成果：微生物クリーニングを行った KI マウスの MEF による予備検討で Cre 等の発現が ES 細胞の結果から予想されたレベルには至らず、CAG-Flp マウスを交配させ、薬剤耐性遺伝子カセット除去を試みた。しかし、CAG-Flp マウスに更なるクリーニングが必要であること等が判明した。クリーニングが終了し、KI マウスのデリータが進んでいるところである。

今後の展望：薬剤耐性遺伝子カセット除去が終了した KI マウスとレポーターマウスとの交配により得られたマウス・MEF を用いて、放射線照射後の組織レベルと細胞レベルでの変化を解析する。

発表論文

なし

福 1-21

SIPS 誘導と液性因子分泌に対する低線量放射線の影響の解析

研究組織

共同研究代表者：山盛 徹

(北海道大学大学院獣医学研究科：准教授)

受入研究代表者：飯塚 大輔

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

我々は、マウス NIH/3T3 細胞に X 線を照射すると、stress-induced premature senescence (SIPS) と呼ばれる細胞老化様の分裂停止を起こし、炎症性サイトカインの発現が上昇することを既に確認している。そこで、これらの現象に対する線量率の違いによる影響を検討した。NIH/3T3 細胞に対し、単回照射条件として 4 Gy/ 1 回、8 Gy/ 1 回ないし低線量率照射条件として 0.5 Gy/day あるいは 1 Gy/day を 8 日間の条件で γ 線照射を行い、その後の変化を観察した。細胞形態の変化から SIPS の誘導を評価したところ、8 Gy/1 回の単回照射条件では照射 8 日後に明らかな SIPS 誘導が観察されたが、低線量率照射を受けた細胞ではほとんど影響はなかった。次に、4 種類の炎症性サイトカイン (IL-6, CXCL1, CCL7, TGF- β 1) の発現をリアルタイム PCR 法により評価した。その結果、単回照射により CCL7 の線量依存的な発現上昇ならびに TGF- β 1 の線量依存的な発現減少が見られた。一方、低線量照射条件では単回照射で観察されたような影響は見られなかった。以上の結果から、 γ 線の急性照射により SIPS が起こると CCL7 ケモカインの発現が亢進するものの、線量率が下がるとどちらも起こらなくなることが示唆された。

発表論文

- 1) Yamamori T, Sasagawa T, Ichii O, Hiyoshi M, Bo T, Yasui H, Kon Y, Inanami O. Analysis of the mechanism of radiation-induced upregulation of mitochondrial abundance in mouse fibroblasts. *J Radiat Res* 2016; 1-10.

福 1-22

胎児期被ばくによる組織幹細胞における DNA 損傷の蓄積と排除

研究組織

共同研究代表者：山内 一己

(環境科学技術研究所：研究員)

受入研究代表者：鈴木 啓司

(長崎大学原爆後障害医療研究所：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

低線量率・低線量放射線被ばくによる健康影響が懸念されているが、発がんリスク推定の基盤になっている LNT モデルでは、発がん標的細胞である組織幹細胞における線量の蓄積を想定している。しかしながら、組織幹細胞における DNA 損傷修復や組織代謝などが DNA 障害を排除する可能性があるため、本共同利用では、とりわけ放射線感受性が高い胎児や小児期の被ばくによる影響を、組織幹細胞における DNA 障害の蓄積と排除という視点から検討することを目的とする。

本年度は、環境科学技術研究所で得られた母体内被ばく胎児マウスからの試料を調製して、長崎大学の蛍光画像取得・解析装置で解析し、DNA 障害の定量的解析を行う予備的検討を行った。

C3H オスマウスと C57BL/6 メスマウス交配し、交配が確認された妊娠雌マウスを妊娠 0 日から 18 日まで 400 mGy/ 日の γ 線を照射した得られたマウス胎仔の組織切片を作成し、TUNEL 法によりアポトーシスの検出と画像解析による定量化を行った。その結果、胎児の発生時期によりアポトーシス陽性細胞の発生頻度と検出される部位が異なることや、発生後期でアポトーシス陽性細胞は減少し、非照射と顕著な差は見られないことがわかった。以上から、中線量率 γ 線照射における胎児期のアポトーシスを数値化 (定量化) の実験系が確立できた。今後は細胞増殖などのマーカーを同時に検出することで、胎児期の組織幹細胞とアポトーシスの挙動を解析する。

本記載事項は、青森県 (文部科学省) からの受託事業により得られた成果の一部である。

発表論文

福 1-23

低線量・低線量率放射線発がんのエピゲノム解析

研究組織

共同研究代表者：臺野 和広

(放射線医学総合研究所：主任研究員)

共同研究者：山田 裕

(放射線医学総合研究所：チームリーダー)

受入研究代表者：笹谷 めぐみ

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

福島原発事故や医療、職業被ばくでは、低線量・低線量率被ばくによる発がんリスク評価が最重要課題である。しかし現時点では、100 mSv 以下の低線量被ばくや低線量率長期被ばくの発がんリスクは解明されておらず、メカニズム研究からのアプローチが必要である。ヒト家族性大腸腺腫症のモデルである Apc Min/+ マウスは、放射線発がん高感受性を示し、放射線誘発腫瘍にはゲノム欠失が同定できることから、低線量・低線量率放射線による発がん機構を解析できる。本研究では、未だ知見の乏しいエピゲノム異常に注目し、笹谷博士らと申請者らが収集している腫瘍の DNA メチル化異常をゲノム網羅的に解析することにより、低線量・低線量率被ばくによる発がんのリスク評価に資する知見を得ることを目的とする。

今年度は、マウス腸腫瘍からの DNA 抽出法、メチル化結合蛋白質によるメチル化 DNA の濃縮法及び、メチル化 DNA の次世代シーケンス解析のためのサンプル調整法の検討を行った。その結果、マウス腸腫瘍に由来する DNA (二本鎖 DNA として約 100 ng) からメチル化 DNA が十分濃縮できることが分かった。また、濃縮したメチル化 DNA から高品質の次世代シーケンス解析用サンプル (ライブラリー) が調整できることを確認した。今後は、自然発症腫瘍及び、放射線誘発腫瘍の次世代シーケンス解析を行い、放射線誘発腸腫瘍における DNA メチル化異常の検出を行う。

発表論文

なし

福 1-24

低線量・低線量率放射線が細胞に与える影響を定量評価するための新たな指標づくり

研究組織

共同研究代表者：森島 信裕

(国立研究開発法人理化学研究所・伊藤
ナノ医工学研究室：専任研究員)

共同研究者：緒方 裕光

(国立保健医療科学院・研究情報支援研究
センター：センター長)

受入研究代表者：神谷 研二

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

受入研究者：笹谷 めぐみ

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

福島第一原発事故による低線量 (率) 放射線被ばくの問題が危惧されているが、ごく微量の放射線被ばくが起す細胞内変化の検出法が確立されていないため危険性の評価は困難である。本研究の目的はタンパク質の変動から細胞内変化を反映する定量的指標を新たに作り、低線量放射線の危険性、安全性と関連づける道筋をつけることにある。

平成 28 年度は、細胞中のタンパク質の定量を可能にする細胞抽出液アレイの作製と特異的抗体を用いた定量法の開発を行った。アレイ作製機として既に試作していた機器を改良した結果、手の平サイズのメンブレン上に 2,000 から 6,000 程度の抽出液試料を再現性よくスポットできるようになった。また、アレイに対して特異的抗体を用いた免疫染色と定量を行う条件の検討を行い、精度の高い定量ができる見通しを得た。解析に使用する特異的抗体については受入研究者がこれまでに得ている研究成果、知見も取り入れて選定を進めた。

今後は受入研究者が動物培養細胞などを用いて作製する被ばく試料を主な材料としてタンパク質定量実験を進めていくことを計画している。広島大学原爆放射線医科学研究所が有する照射装置を利用すれば様々なレベルの線量における再現性のよい被ばく実験が実施できる。精密なタンパク質定量を通して低線量放射線の影響を数値化し、細胞内シグナル系、細胞ストレス応答系の変化が検出できるようになることを期待している。

福 1-25

長期被ばくに関するマウス最新実験における線量率効果の数理モデルからの検討

研究組織

共同研究代表者：和田 隆宏

(関西大学システム理工学部：教授)

共同研究者：真鍋 勇一郎

(大阪大学大学院工学研究科：助教)

坂東 昌子

(大阪大学核物理研究センター：協同研究員)

田中 公夫

(環境科学技術研究所生物影響研究部：相談役)

受入研究代表者：佐藤 健一

(広島大学原爆放射線医科学研究所：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

共同研究代表者らは、放射線の生物への影響を理解するための数理モデルとして Whack-A-Mole (WAM) モデル (もぐらたたきモデル) を提唱している。このモデルは、これまで放射線による突然変異の発生の実験データに適用され、線量率依存性を明らかにしてきている。一方で、リスク防護の観点ではしきい値無し直線モデル (LNT 仮説) が用いられており、線量率依存性は十分考慮されていない。

本研究では、田中による長期連続照射マウスの染色体解析結果に同モデルを適用し、統計の専門家である佐藤と協力して長期被ばくにおける損傷の発生と回復に関する分野横断研究を実施した。本年度は、マウスデータを元に放射線照射とがんの発生・がんによる死亡との関連を解析し、現在、線量率依存性を考慮した数理モデルを構築中である。また、佐藤より原爆被爆者の疫学データについて解説を受け、どのデータが長期被ばくの特徴を明らかにするのに適当かを現在検討中である。

今後は、動物実験データの解析を進めて、がん発生とがんの成長に対して放射線の影響 (線量率効果を含めて) を取り入れた数理モデルを構築し、原爆被爆者の疫学データへの適用を目指す。

発表論文

学会発表：A mathematical model for the effects of radiation to the induced cancer in mice, T. Wada, Y. Manabe, M. Bando, APS March Meeting 2017, March 17, 2017, New Orleans, LA, USA.

福 1-26

発がん高感受性モデルマウスを用いたトリチウム水暴露による発がんのリスク評価

研究組織

共同研究代表者：馬田 敏幸

(産業医科大学教育研究支援施設：教育教授)

受入研究代表者：神谷 研二

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

受入研究者：笹谷 めぐみ

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

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曝の影響を調べることを目的としている。今年度は実験系の整備と予備実験を行った。広島大学から $Apc^{Min/+}$ マウスの受精卵を産業医科大学動物研究センターに搬入し、 $Apc^{Min/+}$ マウスの個体を還元し繁殖を開始した。 $Apc^{Min/+}$ マウスは生後2週齢からの低線量率放射線被曝で小腸・大腸の発がんが報告されている。そこでトリチウム投与実験では生後2週齢でトリチウム水の投与が必要なため、投与可能なトリチウム水の容量を見積もるために、他系統の生後2週齢の新生児マウスの腹腔内に生理食塩水を投与した。その結果、体重が6から8グラムの2週齢のマウス腹腔内へのトリチウム水の投与量は100 μ lが限度であることが判明した。このことより、 $Apc^{Min/+}$ マウスに1週間で1Gyを被曝させるには、トリチウムの比放射能は900 MBq/mlが必要であることが分かった。

今後は、様々な放射能のトリチウム水を生後2週齢の $Apc^{Min/+}$ マウスの腹腔内に投与し、19週齢まで飼育して体重、脾臓の重量、リンパ球数、ヘモグロビン値、血小板数ならびに小腸・大腸の腫瘍数を計測し、非照射群の値と比較・検討する。

発表論文

1. 馬田敏幸, トリチウムの生態影響評価, 産業医科大学雑誌, 2017年3月

福 1-27

低線量・低線量率放射線被ばくがマウス個体内で Th1/Th2 バランスに及ぼす影響

研究組織

共同研究代表者：高山 英次

(朝日大学歯学部：准教授)

共同研究者：佐藤 あやの

(岡山大学大学院自然科学研究科：准教授)

増田 潤子

(岡山大学大学院自然科学研究科：助教)

中田 隆博

(常葉大学健康プロデュース学部：教授)

受入研究代表者：一戸 辰夫

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

受入研究者：本庶 仁子

(広島大学原爆放射線医科学研究所：講師)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、低線量・低線量率放射線による全身被ばくが Th1/Th2 免疫能バランスに及ぼす影響を、実験動物生体内において検討するものである。平成 27 年度までに、低線量 γ 線を照射されたマウスについて、白血球サブセットと、サイトカインの産生能を調べた。本年度（平成 28 年度）は、同系統腫瘍株を移植したマウスを用いて白血球サブセットと、サイトカインの産生能を調べた。さらに、同系統腫瘍株を移植したマウスに低線量 γ 線照射を施し、腫瘍拒絶能への影響を検討した。

5 週齢の BALB/c 系統雌マウスを購入して一週間馴化、6 週齢に BALB/c 系統由来大腸癌細胞株（CT26）を移植、8 週齢に脾細胞を単離した。そして、骨髓球系（CD11b 陽性）細胞の Ly6C 陽性および Ly6G 陽性サブセットの割合を調べた。また CD4 陽性細胞と CD8 陽性細胞および CD4 陽性 CD25 陽性 Foxp3 陽性サブセットの割合を、フローサイトメーター（FCM）法で調べた。また、抗 CD3 ϵ モノクローナル抗体（145-2C11）を用いた試験管内刺激培養により産生されたインターフェロン- γ （IFN- γ ）、インターロイキン-4（IL-4）、およびインターロイキン-10（IL-10）量を、酵素結合免疫吸着（ELISA）法で調べた。さらに、6 週齢に腫瘍細胞株を移植、7 週齢に低線量 γ 線を照射、8 週齢に腫瘍生着率を調べた。

CD11b 陽性 Ly6C 陽性骨髓由来抑制（MDS）細胞および CD11b 陽性 Ly6G 陽性 MDS 細胞の割合は、担癌個体において増加していた。そして、CD4 陽性のヘルパー T

（Th）細胞および CD8 陽性の細胞障害性 T（CTL）細胞の割合は担癌個体において低下していたが、担癌個体の CD4 陽性 CD25 陽性 Foxp3 陽性調節性 T 細胞の割合に有意な変化は認められなかった。また、Th1 型抗腫瘍サイトカインである IFN- γ 、Th2 型サイトカインである IL-4、および調節性サイトカインである IL-10 の産生能は、いずれも担癌個体において減弱していた。

γ 線照射されたマウスの MDS 細胞および T 細胞サブセットと、Th1 型サイトカイン、Th2 型サイトカインおよび調節性サイトカインの産生能は、「平成 27 年度成果報告集：p6-7」に述べた。腫瘍を移植された担癌マウスの MDS 細胞および T 細胞サブセットと、Th1 型サイトカイン、Th2 型サイトカインおよび調節性サイトカインの産生能は、本成果報告書および下記「Oncology Reports 誌」に述べた。さらに、来年度（平成 29 年度）は、低線量 γ 線を照射した個体の Th1/Th2 バランスに及ぼす影響が、腫瘍生着率に及ぼす影響を、詳細に検討する予定である。

発表論文

Masuda J *, Takayama E *, Strober W, Satoh A *, Morimoto Y, Honjo Y *, Ichinohe T *, Tokuno S, Ishizuka T, Nakata T*, Mizutani A, Umemura N, Kitani A, Fuss IJ, Shigehiro T, Kawaki H, Mizuno-Kamiya M, Kondoh N, Seno M. Tumor growth limited to a single site vs tumor growth in multiple sites exhibit differential effects on systemic immunities. Oncology Reports. 2017 Jul; 38 (1): 449-455.

福 1-28

低線量率長期被ばくによる放射線誘発白血病マウスの原因遺伝子の探索

研究組織

共同研究代表者：廣内 篤久

(環境科学技術研究所：研究員)

受入研究代表者：神谷 研二

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

受入研究者：笹谷 めぐみ

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究では、20 mGy/22 時間 / 日の低線量率 γ 線の 400 日間連続照射と、400 mGy/22 時間 / 日の中線量率 γ 線の 10 日間連続照射のそれぞれによって発生した白血病マウスの白血病細胞のゲノムを次世代シーケンサーを用いて解析することで、低・中線量率放射線の白血病誘発作用を明らかにする事を目的とした。4 匹の低線量率放射線誘発白血病マウスの解析を行ったところ、全マウスに共通の変異は見つからず、4 匹中 3 匹に共通の遺伝子変異が 3 つ (*Arpc1b*, *Muc4*, *Btn1b*)、4 匹中 2 匹の共通遺伝子変異が 15、1 匹にのみ観察された遺伝子変異は 18 であった。他方、中線量率放射線誘発白血病マウス 4 匹では全マウス共通遺伝子変異は同じく観察されず、4 匹中 3 匹の共通遺伝子変異が 9 つ (*Defb8*, *Cd244*, *Ppp2r5a*, *Slc28a2*, *Prr14l*, *Vmn1r176*, *Polb*, *Slc6a2*, *Pcdhb7*)、4 匹中 2 匹の共通遺伝子変異が 34、1 匹にのみ観察された遺伝子変異は 20 であった。さらにこれら両者の遺伝子変異群を Ingenuity Pathway Analysis® を用いて、細胞内機能 (Role in Cell)、生物学的プロセス (Biological Process)、疾病 (Disease) の 3 つのカテゴリーに分けて annotation を行った。その結果、先ず上記 3 つのカテゴリーにおいて低線量率放射線誘発白血病と中線量率放射線誘発白血病は非常に類似していることが示されたが、中線量率放射線誘発白血病においてのみ細胞内機能では quantity と adhesion、生物学的プロセスでは cell adhesion、mRNA processing、RNA splicing、疾病では non-insulin-dependent diabetes mellitus に関連する遺伝子変異が多いことが分かり、低線量率放射線誘発白血病にのみ見られるカテゴリーの遺伝子変異が非常に稀であることが分かった。

発表論文

なし (論文作成中)。

福 1-29

東日本大震災とそれに引き続く東京電力福島第一原子力発電所事故の前後における福島県の悪性新生物罹患と疾病特異的死亡率の変化に関する研究

研究組織

共同研究代表者：佐々木 栄作

(福島県立医大腫瘍内科学講座：助手)

受入研究代表者：佐治 重衡

(福島県立医大腫瘍内科学講座：主任教授)

受入研究者：大平 哲也

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

高橋 秀人

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

* 平成 28 年度は、臓器別悪性新生物の年齢階級別罹患率の動向に絞った検討を行った。

研究内容：

平成 20 年から平成 24 年までの福島県地域がん登録の公表データと、全国がん罹患モニタリング集計 (国立がん研究センターがん情報対策センター作成) 掲載の公表データをデータソースとして、年齢階級別罹患率、発見経緯、臨床進行度分布、検診受診率、がん検診プロセス指標に関して、全国推計と福島県との比較を行った。

なお、本年度は、検診を実施している 5 臓器の悪性新生物 (胃、大腸、肺、乳房、子宮頸部) に限定して検討した。

研究成果：

- 検討した 5 臓器の悪性新生物の年齢階級別罹患率は、震災後の 2011 年以降に、同一年次の全国推計値と同レベルかもしくは少ない傾向をとる。
- 福島県のデータで年次トレンド予測の解析を行ったが、まとまった年齢階級で 2012 年の予測値を上回る増加を示した臓器は確認されなかった。
- 福島県のデータで 2012 年の 0 - 4 歳階級の女性において、胃の悪性新生物の罹患が記録されている。これについては、現在帳票を確認中である。
- 検診受診率は、福島県は全国より上回っているが、震災後はやや減少し、全国レベルに近づきつつある。
- 震災後の 2011 年の年齢階級別の検診受診率では、就労年齢において検診受診率が低下する傾向があり、特に、胃、肺においてその傾向が明らかである。

今後の展望：

- 若年の悪性新生物罹患（特に 2011 年以降）については継続して追跡し、全国トレンドとの比較を行う。
- 県民健康調査で得られているストレス指標と突合させた解析を行う予定。

発表論文

未定（年齢階級別罹患率の比較の結果について、論文投稿の準備を進めている。）

福 1-30

チェルノブイリ周辺地域と本邦の自然発症性甲状腺癌の病理組織学的検討

研究組織

共同研究代表者：伊東 正博

（国立病院機構長崎医療センター機能形態研究部：部長）

共同研究者：タチアナ・ボグダノワ

（キエフ内分泌代謝研究所病理部：部長）

黒濱 大和

（国立病院機構長崎医療センター病理診断科：病理医）

受入研究代表者：中島 正洋

（長崎大学原爆後障害医療研究所：教授）

受入研究者：ウラディミール・サエンコ

（長崎大学原爆後障害医療研究所：准教授）

近藤 久義

（長崎大学原爆後障害医療研究所：准教授）

研究内容・研究成果・今後の展望等

甲状腺癌の発生頻度、形態形成、遺伝子変異は人種や地域により差が見られることは知られている。本研究ではヨード環境の異なるチェルノブイリ周辺と本邦の自然発症性甲状腺癌の病理組織学的な特徴を明らかにし、若年被曝放射線誘発甲状腺癌の形態学的な基礎データとすることを目的としている。

これまでにチェルノブイリ周辺地域と本邦の成人の自然発症性甲状腺癌の病理組織学的検討を行い報告した（Endocr J 2014）。平成 28 年度は小児・若年者甲状腺癌の病理組織学的検討を行った。本邦の 160 症例、ウクライナの 188 例、合計 348 の小児・若年者甲状腺癌を用い、臨床病理組織学的検討を行った。主な検討項目は甲状腺乳頭癌の垂型分類、pT、pEx、腫瘍構成成分比率、好酸性化やリンパ球浸潤の程度、リンパ節転移、遠隔転移の有無などである。この成果は現在、Endocrine J に投稿中で受諾のコメントを得ている。

今後は、福島県の県民検診事業で発見され手術された症例（約 160 症例）を同様の方法で評価し、福島症例の病理組織学的な特徴を明らかにする。最終的には以下の 4 群、チェルノブイリ周辺地域の放射線被曝関連若年者甲状腺癌、自然発症性甲状腺癌、本邦の自然発症性甲状腺癌、福島症例の比較を行い放射線被曝の影響の有無を検討する計画である。

発表論文

Bogdanova T, Saenko V, Hirokawa M, Ito M, Zurnadzhy L, Hayashi T, Rogounovitch T, Miyauchi A, Tronko M, Yamashita S

Comparative histopathological analysis of pediatric sporadic papillary thyroid carcinoma from Japan and Ukraine. Endocrine J (in press)

福 1-31

里山に大気沈着した放射性セシウムの動態解明と環境調和型除染技術の開発

研究組織

共同研究代表者：大河内 博

(早稲田大学理工学術院創造理工学研究科：教授)

受入研究代表者：反町 篤行

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

2016年4月、6月、8月、12月に、福島県浪江町南津島の山林でスギと落葉広葉樹で生葉、落葉、表層土壌、底砂の放射性Cs濃度を調査した。2012年から2016年まで行った福島市浪江町間の走行サーベイにより、除染によって空間線量率は急速に減衰しているが、未除染の波江町の山林では物理的減衰と同程度であることが分かった。福島市内では未除染の山林が点在しているため、周辺地域では空間線量率が高い傾向にあった。2014年以降、波江町の山林では落葉広葉樹林では林床（落葉と表層土壌）で放射性Csは物理的減衰以上に減少していないが、スギ林では生葉と落葉で減少し、2016年には表層土壌に蓄積していた。2014年までスギ落葉中放射性Csは降水による溶脱が顕著であった。2013年春季には、放射性Csはスギ林よりも広葉樹林で表層土壌から深層に移行していたが、2015年冬季にはスギ林で深層への移行率が上回っていることが分かった。里山内を流れる小川では、放射性Csは小粒径の底砂に蓄積しており、一部は浮遊砂として流出していた。しかしながら、表層土壌に対する浮遊砂の放射性Cs濃度比は広葉樹林で2013年：0.54、2016年：0.29、スギ林で2013年：1.4、2016年：0.31と低下しており、森林内に保持されていることが分かった。春季にはスギ生葉よりも放射性Csを高濃度に含んだスギ雄花が大量に浮遊しており、スギ雄花による放射性Csの生活圏への流出が懸念された。

磁性ナノ粒子および磁性粒子にプルシアンブルーを担持し、落葉からの放射性Csの除去実験を室内で行った。プルシアンブルー担持磁性ナノ粒子では落葉から放射性Csをほぼ除去することができたが、磁石によりプルシアンブルー担持磁性ナノ粒子と落葉の分離を行うことが出来なかった。プルシアンブルー担持磁性粒子では、落葉から放射性Cs除去率は約60%であるが、磁石によりプルシアンブルー担持磁性粒子と落葉の分離を行うことが出来た。今後はさらなる除去率の向上を図る必要がある。

発表論文

金野俊太郎, 大河内博, 勝見尚也, 緒方裕子, 片岡淳, 岸本綾, 岩本康弘, 反町篤行, 床次慎二, 福島県の里山における植物, 土壌, 底砂中放射性セシウムの長期変動, 分析化学, Vol. 66, No. 3, pp. 163-174 (2017)

福 1-32

Effects of radiation on cardiac stem cells and cardiac repair

研究組織

共同研究代表者: Ke Cheng

(米国ノースカロライナ州立大学: 准教授)

受入研究代表者: 李 桃生

(長崎大学原爆後障害医療研究所: 教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究で、我々は MSC 人工合成物の移植による心筋再生治療の有効性について調べた。ヒト骨髄由来 MSC の培養上清を凍結乾燥し、濃縮した培養上清と PLGA (乳酸・グリコール酸共重合体) を混合したナノ粒子に MSC 膜でコーティングすることにより、MSC の人工合成物を作製した。この MSC 人工合成物は、凍結保存や凍結乾燥にも安定性を保ち、生きたままの MSC と類似した成長因子分泌プロファイルおよび細胞表面マーカーを示した。また、MSC 人工合成物をマウス梗塞心筋に移植した結果、生きた MSC の移植治療と同等な血管新生誘導および心機能改善の効果が得られた。

我々は、MSC の人工合成物の作製に成功し、心筋再生に有用であることを本研究で実証した。今後、工学技術を駆使した人工的な細胞合成物が、生きた細胞の代わりに再生医療へ応用されることが大いに期待されます。

発表論文

Lan Luo, Junnan Tang, Kodai Nishi, Chen Yan, Phuong-Uyen Dinh, Jhon Cores, Takashi Kudo, Jinying Zhang, Tao-Sheng Li, Ke Cheng. Fabrication of synthetic mesenchymal stem cells for the treatment of acute myocardial infarction in mice. Circulation Research, Mar, 2017.

福 1-33

扁平上皮癌幹細胞の未分化性及び sphere formation に及ぼす低線量放射線の影響

研究組織

共同研究代表者：岡本 哲治

(広島大学医歯薬保健学研究院顎・口腔外科:教授)

共同研究者：中峠 洋隆

(広島大学医歯薬保健学研究院顎・口腔外科:歯科診療医)

Nguyen Quang Tam

(広島大学医歯薬保健学研究院:大学院生)

濱田 充子

(広島大学医歯薬保健学研究院顎・口腔外科:歯科診療医)

山崎 佐知子

(広島大学医歯薬保健学研究院顎・口腔外科:助教)

檜垣 美雷

(広島大学医歯薬保健学研究院:大学院生)

受入研究代表者：松浦 伸也

(広島大学原爆放射線医科学研究所:教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

低線量放射線照射の口腔がん幹細胞に及ぼす影響を検討することで、がん幹細胞の細胞機能を明らかにし、低線量放射線の発がんへの影響を明らかにすることを目的とした。口腔扁平上皮がん (OSCC) 細胞株として当研究室で樹立し、現在細胞バンクで提供中の HO-1-N-1、HO-1-U-1 株を用い、外陰部扁平上皮がん由来細胞株として A431 細胞株を用いた。各種細胞株を当研究室で開発した無血清培地 RD6F を用いて単層培養し、低線量ガンマ線照射 (0.05, 0.1, 0.5, 1Gy) を行った。照射後 24 時間培養した各々の細胞について、がん幹細胞マーカーのひとつである CD133 を標的とし、陽性細胞の割合を flow cytometry 法を用いて測定した。その結果、すべての株で 0.5Gy 以上の線量でその割合がわずかに上昇傾向であった。また、連続照射により CD133 陽性細胞の割合が、照射前と総量 15Gy 照射後で約 4 倍増加した。以上より、口腔がん細胞は低線量放射線照射によってがん幹細胞としての特徴を有する細胞群が増加する可能性が in vitro の系で示唆された。今後は、低線量放射線照射回数の変更や、照射後の増殖 assay、コロニー assay、がん幹細胞の指標である sphere 形成能やヌードマウスでの腫瘍形成能などの評価項目を追加することで、放射線照射による口腔がん幹細胞の細胞動態や機能を明らかにし、放射線治療の効果を高めるとともに、がん幹細胞に起因する再発・転移といった有害事象に対する解

決法の開発につなげていきたい。

発表論文

未発表

福 1-34

完全無血清・無フィーダー培養系での iPS 細胞誘導に及ぼす低線量放射線の影響

研究組織

共同研究代表者：岡本 哲治

(広島大学医歯薬保健学研究院顎・口腔外科：教授)

共同研究者：中峠 洋隆

(広島大学医歯薬保健学研究院顎・口腔外科：歯科診療医)

Nguyen Quang Tam

(広島大学医歯薬保健学研究院：大学院生)

濱田 充子

(広島大学医歯薬保健学研究院顎・口腔外科：歯科診療医)

山崎 佐知子

(広島大学医歯薬保健学研究院顎・口腔外科：助教)

受入研究代表者：松浦 伸也

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究では、低線量放射線の末梢血単核球の初期化に及ぼす影響を明らかにするため、患者より採取した末梢血より、Ficoll-Hypaque 比重遠心法を用いて単核球画を分取し、当科で開発した無血清培地 RD6F に IL-2 を添加した培地を用いて 5 日間培養した後、T-25 フラスコに再播種し Gamma-cell system にて 0.098、0.49、1.04 および 2.08 Gy 照射あるいは RM1000 にて 0.12、0.56、1.1 および 2.2 Gy 照射を行った。照射 2 日目後、当科で hiPS 細胞の樹立に成功してきた完全無血清・無フィーダー培養系にて、初期化 4 遺伝子 (Klf4, Oct4, Sox2, c-Myc) がリニア状に搭載されたセンダイウイルスベクター (SeVdp) を MOI 6 で感染し、放射線照射した末梢血単核球を初期化させ iPS 細胞の誘導を行った。誘導開始から 25 日目に未分化の指標の一つであるアルカリフォスファターゼ (ALP) 染色を行い、その陽性コロニー数より各放射線照射条件による iPS 細胞の誘導効率を算出した。その結果、Gamma-cell system、RM1000 いずれの照射方法においても約 0.1Gy の照射量で誘導効率の増加がみられた。今後は、N 数を増やすとともに 0.1Gy 以下の低線量照射条件を追加し、さらなる低線量放射線照射による末梢血単核球の初期化に及ぼす影響を明らかにする。

発表論文

未発表

福 2-1

放射線被曝のバイオドジメトリーを志向した尿プロテオーム解析

研究組織

共同研究代表者：泉 俊輔

(広島大学理学研究科：教授)

受入研究代表者：河合 秀彦・飯塚 大輔

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

低線量放射線被ばくにおける事故・災害に際しては、広範な被ばくを疑われる者に対して迅速かつ正確な被ばく線量の推定・リスク評価が重要である。本研究では、原子力施設等の事故を想定し、災害時でも非侵襲的かつ簡便に採取ができる尿検体を用いた新規バイオドシメトリー（生物学的線量評価法）の構築を目指した。

4.0 Gy 照射後 24 時間が経過したマウス尿検体を HPLC により分取し、各フラクションを MALDI-TOF MS 測定した。その結果 m/z 2820 のイオンが被ばくにより大きく増加した。これを MS/MS 測定の後、相同性検索により同定したところ、Hepcidin 2 であることがわかった。次にこの尿中 Hepcidin 2 の被ばく後の経時変化をみるため、各尿検体を脱塩し、MALDI-TOF MS 測定した。内部標準として尿中に元来存在している Uromodulin 由来イオン (m/z 2001) を用いた。Fig. 1 より被ばく後の尿中 Hepcidin 2 は被ばく線量が増すにつれて増加し、また最大値を迎える時間も遅くなることがわかった。さらに 0.25 Gy、0.50 Gy の低線量では、被ばく後 4～7 日後で 2 度目の増加をすることも明らかとなった。

今後は、Hepcidin 2 をバイオマーカーとしてプロファイリングを行う。Hepcidin 2 はねずみにしか存在しないペプチドであるが、その遺伝子が動くことに重要な意味があるという強い信念の元に、新規物質をペプチド類を網羅的に探索する。

発表論文

Daisuke Iizuka, Susumu Yoshioka, Hidehiko Kawai, Emi Okazaki, Keita Kiriya, Shunsuke Izumi, Mayumi Nishimura, Yoshiya Shimada, Kenji Kamiya, and Fumio Suzuki Hepcidin-2 in mouse urine as a candidate radiation-responsive molecule responsive molecule, J Radiat Res (2016) 57 (2): 142-149.

福2-2

Mn-56 の内部被曝実験を基礎にした内部被曝量推定法の開発

研究組織

共同研究代表者：藤本 成明

(広島大学原爆放射線医科学研究所：准教授)

受入研究代表者：中島 正洋

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

受入研究者：七條 和子

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射性 $^{56}\text{MnO}_2$ 微粒子をラットへ暴露し、その内部被曝線量の測定と、内部被曝による生物学的影響を解析した。対照として、非放射化 MnO_2 曝露、 ^{60}Co - γ 線 2Gy 全身照射、非曝露の各群を設定した。

中性子線照射により MnO_2 粉末を放射化して Wistar ラットへ暴露した。 $^{56}\text{MnO}_2$ 曝露によるラット各臓器の吸収線量は、小腸で 1.3 Gy、胃で 0.24 Gy と消化管で高く、次いで、肺の 0.1 Gy、皮膚の 0.08 Gy であった。病理組織検査の結果、 $^{56}\text{MnO}_2$ 曝露群の肺では 0.1Gy という低い吸収線量にも関わらず、曝露 3 日目で、組織内の出血や炎症像がみられ、その障害は 14 日後でも継続していた。一方、2Gy の γ 線照射群では肺への病理学的影響はなかった。また、 $^{56}\text{MnO}_2$ 群、 γ 線群とも、小腸のクリプト領域で分裂細胞像の増加が見られたが、 $^{56}\text{MnO}_2$ 群では影響がより顕著であった。

今後、各臓器の詳細な病理組織学的検索、各組織での放射線感受性遺伝子発現、タンパク質発現の解析、および、それらの放射線線量依存性の解析を行うことで、放射性微粒子曝露による内部被曝の生物影響とその障害の分子メカニズムを解明し、さらにそれを基に内部被曝の生物学的ドシメトリー開発に取り組む予定である。

発表論文

1. Fujimoto N, Kanno J, Increase in prostate stem cell antigen expression in prostatic hyperplasia induced by testosterone and 17 β -estradiol in C57BL mice, J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 158, 56-62, 2016.04.
2. Fujimoto N, Nitta Y, Endo S, Hoshi M, Changes in plasma triiodothyronine, thyroxine, and TSH after ^{131}I irradiation of newborn rats fed with iodine deficient diet, Sci. Healthcare 18, 26-33, 2016.08.

3. Stepanenko V, Rakhyrbekov T, Otani K, Endo S, Satoh K, Kawano N, Shichijo K, Nakashima M, Takatsuji T, Sakaguchi A, Kato H, Onda Y, Fujimoto N, Toyoda S, Sato H, Dyussupov A, Chaizhunusova N, Sayakenov N, Uzbekov D, Saimova A, Shabdarbaeva D, Skakov M, Vurim A, Gnyrya V, Azimkhanov A, Kolbayenkov A, Zhumadilov K, Kairikhanova Y, Kaprin A, Galkin V, Ivanov S, Kolyzhenkov T, Petukhov A, Yaskova E, Belukha I, Khailov A, Skvortsov V, Ivannikov A, Akhmedova U, Bogacheva V, Hoshi M, Internal exposure to neutron-activated ^{56}Mn dioxide powder in Wistar rats: part 1: dosimetry, Radiat. Environ. Biophys. 56, 47-54, 2017.03.
4. Shichijo K, Fujimoto N, Uzbekov D, Kairikhanova Y, Saimova A, Chaizhunusova N, Sayakenov N, Shabdarbaeva D, Aukenov N, Azimkhanov A, Kolbayenkov A, Mussazhanova Z, Niino D, Nakashima M, Zhumadilov K, Stepanenko V, Tomonaga M, Rakhyrbekov T, Hoshi M, Internal exposure to neutron-activated ^{56}Mn dioxide powder in Wistar rats-Part 2: pathological effects, Radiat. Environ. Biophys. 56, 55-61, 2017.03.
5. Matsubara K, Nakamura N, Sanoh S, Ohta S, Kitamura S, Uramaru N, Miyagawa S, Iguchi T, Fujimoto N, Altered expression of the Olr59, Ethel1, and Slc10a2 genes in the liver of F344 rats by neonatal thyroid hormone disruption. J Appl Toxicol. *In press.*

福 3-1

伝統生薬・未解明植物由来の放射線防御物質探索研究

研究組織

共同研究代表者：松浪 勝義

(広島大学大学院 医歯薬保：教授)

共同研究者：山野 幸子

(広島大学大学院 医歯薬保：准教授)

山野 喜

(広島大学大学院 医歯薬保：助教)

森川 まりあ

(広島大学 薬学部：学部生)

受入研究代表者：田代 聡

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線被ばくの感受性の高い組織として造血器官や消化器官があげられる。特に腸の上皮細胞再生不全による下血、下痢、脱水症や電解質不均衡による腸死が知られている。本研究ではラットの腸管上皮細胞 IEC-6 を用い、¹³⁷Cs ガンマ線照射による細胞死を抑制する化合物の探索を目的としている。これまでに単回 5Gy 照射により 40% 程度の増殖阻害がみられることを見出し、すでに人への投与経験のある中国生薬を対象にスクリーニングを行った。その結果、狗脊という生薬を投与した場合細胞生存率が向上したことから、カラムクロマトグラフィーにより活性成分の分離精製を試みた。溶媒分配法によりヘキサン可溶画分に活性が強くみられたことから、さらにシリカゲル、ODS カラムクロマトグラフィーで分画を繰り返し活性本体を分画した。現在 HPLC で精製を試みたが微量で複雑な混合物であり精製は困難であった。現在、他にも活性を見出したサンプルがあることから並行して活性成分の単離精製について検討を行っている。

発表論文

なし

福 3-2

シスチン・テアニンのラットにおける放射線防護効果

研究組織

共同研究代表者：土屋 誉

(仙台医療センター 仙台オープン病院：院長)

受入研究代表者：中島 正洋

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

受入研究者：松山 睦美

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

七條 和子

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

【目的】

アミノ酸混合物のシスチン・テアニンは、生体内でグルタチオンの生合成に利用されることが分かっており、抗酸化作用を介し放射線障害を軽減する可能性が期待される。この研究ではシスチン・テアニンが急性放射線障害の防護効果を持つかどうかを調べるため、シスチン・テアニン前投与及び前後投与による X 線全身照射後の生存率と、前投与後の急性腸管障害への生体影響を検討した。

【方法】

動物は 7 週齢雄性 Wistar rat を用いた。シスチン・テアニン 280mg/kg を経口投与した投与群と 0.5% メチルセルロース溶液を投与したコントロール群に分けた。生存率については、5Gy X 線照射前 5 日間投与と、シスチン・テアニンを照射前 5 日と後 5 日間投与した影響を調べた。腸管障害については、シスチン・テアニン投与 2Gy X 線照射前 5 日間の影響を小腸及び大腸陰窩のアポトーシスと分裂増数を指標に解析した。

【結果】

シスチン・テアニン前投与の 5Gy 照射後の体重減少は、投与群で対照群より軽度であり生存率は対照群と比較し投与群で有意に高率であった (28 日後 54.5% vs. 78.3%, $p=0.04$)。一方シスチン・テアニンの前後投与では、投与群と対照群で体重減少と生存率に有意差は見られなかった (28 日後 57.1% vs. 72.7%, $p=0.4075$)。2Gy 照射後小腸陰窩のアポトーシス像数は 6 時間後投与群でわずかに低値、分裂像数は高値であった。TUNEL 陽性細胞数は陰窩と絨毛間質とも 24 時間まで投与群で低値、陰窩の Ki-67 標識率は 6～72 時間まで投与群で高値だった。大腸陰窩の放射線誘発アポトーシス数は投与群で 3 時間以後有意に低値で

あり、分裂像数は投与群で6時間以後有意に高値を示した。さらに大腸組織の Western blot でアポトーシス実行因子 Cleaved caspase-3 の発現低下を認めた。

【結論】

シスチン・テアニン前投与は全身高線量被曝後の生存率と急性腸管障害を改善し、防護効果が示唆される。今後の展望として、シスチン・テアニン前投与の生存率の防護効果のメカニズムを調べるため、5Gy 照射後の骨髄の組織障害を調べる予定である。

発表論文

これまでの結果を踏まえて今後、論文作成予定。

福 3-3

造血システムの低線量率被ばくに対する防護法の開発

研究組織

共同研究代表者：白須 直人

(福岡大学医学部生化学講座：講師)

共同研究者：安永 晋一郎

(福岡大学医学部生化学講座：教授)

瀬川 波子

(福岡大学医学部生化学講座：准教授)

芝口 浩智

(福岡大学医学部生化学講座：講師)

山田 博美

(福岡大学医学部生化学講座：技術職員)

受入研究代表者：瀧原 義宏

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

受入研究者：大野 芳典

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

造血組織は放射線被ばくの影響を最も受け易い組織の一つであり、造血システムの放射線被ばくに対する防護剤の研究は世界中で多数の研究が行われているが、そのほとんどが高線量率放射線被ばくに対するものであった。しかし、東電福島第一原子力発電所事故による放射性物質汚染の問題から低線量率放射線被ばくによる健康被害について世界的に注目が集まっており、低線量率・低線量放射線被ばくに対する防護剤や障害緩和剤の開発は急務を要する。そこで本研究で申請者は低線量率・低線量被ばくによる造血システムの障害に対する防護法を開発することを目指した。まず本年度は、低線量率放射線照射下で1か月間飼育したマウスから未分化造血細胞(c-Kit⁺、Sca-1⁺、Lineage-: KSL細胞)を分取し、KSL細胞をDNA損傷のマーカーである抗γH2AX抗体や抗53BP1抗体で免疫染色してDNA損傷の蓄積の程度を評価した。さらに、非同末端結合修復機構のマーカーであるリン酸化DNA-PKcsや相同組換え修復機構のマーカーであるRad51について免疫染色を行い、未分化造血細胞においては低線量率放射線被ばくに対してどのようなゲノム修復機構が引き起こされているのかについて検証した。その結果、KSL細胞においては低線量率放射線被ばくに対して非同末端結合修復機構によって損傷ゲノムの修復が行なわれていることが解った。今後は、ゲノム障害において非同末端結合修復を誘

導することが報告されている TPO の低線量率放射線に対する未分化造血細胞の防護効果について解析を進める計画である。

発表論文

Manipulation of Cell Cycle and Chromatin Configuration by Means of Cell-Penetrating Geminin. Ohno Y, Suzuki-Takedachi K, Yasunaga S, Kurogi T, Santo M, Masuhiro Y, Hanazawa S, Ohtsubo M, Naka K, Takihara Y. PLoS One. 11(5): e0155558. 2016.

Role of Geminin in cell fate determination of hematopoietic stem cells (HSCs). Yasunaga S, Ohno Y, Shirasu N, Zhang B, Suzuki-Takedachi K, Ohtsubo M, Takihara Y. Int J Hematol. 104(3): 324-9. 2016.

福3-4

放射線防護剤候補化合物の活性評価および作用機構解析

研究組織

代 表 者：森田 明典

(徳島大学大学院・医歯薬学研究部：教授)

共同研究者：氏田 将平

(徳島大学大学院・保健科学教育部：博士前期課程1年)

山川 知晃

(徳島大学・医学部・保健学科・放射線技術科学専攻：学部4年生)

重松 真介

(徳島大学・医学部・保健学科・放射線技術科学専攻：学部4年生)

西村 和真

(徳島大学・医学部・保健学科・放射線技術科学専攻：学部4年生)

受入研究者：稲葉 俊哉

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

人体への放射線リスクを真に低減する数少ない方法の一つとして、放射線防護剤の研究開発は極めて重要である。近年、放射線感受性を修飾する因子の研究と、それらを制御する化合物の開発が進みつつあり、とりわけ細胞死制御による防護剤の開発が注目されている。我々は p53 分子内の亜鉛結合部位を標的とする化合物の合成、探索を進め、p53 活性を制御するいくつかの放射線防護剤候補化合物の開発に成功している (*Oncotarget* 4, 2439-2450, 2013 他)。本研究では、放射線災害医療や放射線治療の分野への応用が期待されるこれらの放射線防護剤候補化合物の活性評価および作用機構解析を推進する。

本研究は現在、p53 の抗細胞死活性を高める転写調節剤 5-クロロ-8-キノリノール (5CHQ) の作用機構解析に注力している。5CHQ は、p53 標的遺伝子のうち、細胞死に拮抗する p21 の発現を亢進させ、細胞死を促進する PUMA の発現を抑制する特異な転写調節活性を有している。また、マウス前脚部の骨髄を鉛で遮蔽防護することによって骨髄死を回避する亜全身照射による腸管障害解析モデルにおいて、5CHQ の防護活性を示す線量減少率 DRF は 1.3 を示し、腸死に優れた有効性を示す防護剤であることが明らかとなっていた。5CHQ は、p53 分子内の亜鉛イオン (II) に対し、1 位の窒素と 8 位の水酸基を介して錯体を形成すると考えられているが、実際にキレート錯体形成における必要性は明らかにされていなかった。今回、我々は 5CHQ の 8 位水酸基の必要性を示した。

め、5CHQ の 8 位水酸基をメチル化した AS-3 (5-chloro-8-methoxyquinoline) と 5CHQ 活性の比較を行った。その結果、5CHQ とは対照的に、AS-3 は放射線細胞死抑制効果を全く示さなかった。得られた結果は、5CHQ による放射線細胞死抑制効果において 8 位水酸基が必須であること示しており、p53 の亜鉛イオン結合部位と二座亜鉛 (II) キレート錯体を形成する活性が必要であると考えられた。

発表論文

投稿準備中

福 4-1

福島森林下流水域水田の汚染メカニズム解明

研究組織

共同研究代表者：松田 正吾

(東京大学アイソトープ総合センター：助教)

共同研究者：中島 覚

(広島大学自然科学研究支援開発センター：教授)

矢永 誠人

(静岡大学理学部放射科学教育研究推進センター：准教授)

西澤 邦秀

(名古屋大学：名誉教授)

受入研究代表者：松田 尚樹

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

今年度は、福島県内の 2 地点の水田において研究を行った。

- ・ 地点 1：4/26、5/18、6/15、7/5、8/2、8/24、9/13 の 7 回にわたり、水田土壌及びコメのサンプリングを行った。
- ・ 地点 2：5/10、6/27、7/24、8/31 の 4 回にわたり、水田土壌及びため池等の用水のサンプリングを行った。また、9/19 に刈り取った稲試料を送付してもらった。

稲の成長段階に合わせた放射能測定および元素分析により、水田土壌中の放射性セシウムが自然減衰よりも早い減少傾向にあること、用水中の放射性セシウム濃度には季節的な濃度上昇もあること、コメの各成長段階での放射性セシウムの移行傾向などが明らかになってきつつある。

いずれの地点においても、サンプリングの都度、協力農家の方に研究の進捗状況を説明するとともに、様々な情報交換を行った。地点 1 では、平成 29 年 3 月 25 日、地点 2 では 3 月 19 日に、得られた科学的知見である測定結果を根拠に協力農家の方に対してリスクコミュニケーションを行った。栽培されたコメの放射性セシウム濃度は、籾のままでも全袋検査のスクリーニングレベル (25Bq/kg) を超えなかった。そのため、体力的な問題で栽培を休止する農家の方がおられるものの、次年度以降も殆どの方が栽培を継続することになった。一方で、コメ中の放射性セシウム移行メカニズムを明らかにするという研究目的があったため、説明資料は測定時間を長時間にして検出限界を低くした結果が元になった。研究目的をしっかりと伝えなければ、「スクリーニングレベルを超えないから安心なはずなのに、検出できるということは放射性セシウムが存在しており不

安」という印象を協力農家の方に与えてしまったかもしれない。この点は、次年度以降の改善点としたい。

発表論文

A correlation between the transfer factor of radioactive cesium from soil into rice plants and the grain size distribution of paddy soil in Fukushima, M. Tsujimoto, S. Miyashita, N. T. Hai, and S. Nakashima, *Radiation Safety Management*, **15**, 1-8 (2016).

福4-2

放射線リスクへの対応における地域保健活動のあり方に関する研究

研究組織

共同研究代表者：山口 一郎

(保健医療科学院生活環境研究部：上席主任研究官)

共同研究者：樫田 尚樹

(保健医療科学院生活環境研究部：部長)

志村 勉

(保健医療科学院生活環境研究部：上席主任研究官)

奥田 博子

(保健医療科学院生活環境研究部：上席主任研究官)

後藤 あや

(福島県立医大：教授)

Erik Svendsen

(Medical University of South Carolina：教授)

受入研究代表者：松田 尚樹

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

受入研究者：折田 真紀子

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

林田 直美

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

福島 芳子

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、原子力災害からの回復期における地域保健活動モデルを展開して、その効果を検証することを目的としており、研究展開のために地域での情報収集を行った。

地域文化と放射線防護に関する学びの場として地域の人々が企画した山菜ときのこの学習会は、問題の困難さを共有し、ともに課題に取り組む姿勢を確認した上で、率直な意見交換の場としても参加者に受け入れられることが観察された。川内村では、食品検査場でこの事業のために雇用された村民により測定がなされている。それらの人々が社会に貢献するためにそれぞれ学習を深めているユニークな特徴がある。この学習会に食品検査場のスタッフが、測定を村の人々の生活に役立てたいという思いから関わっていた。

このような伝統文化を重んじて放射線防護を考えることは新たな挑戦となる。川内村での伝統文化として炭焼があるが、村で開催された国際シンポジウムも契機としての福島県環境創造センターとも連携し、科学的な根拠に基づく

炭焼の復活への模索も始まっている。

今後は、これらの課題に環境省の研究調査事業により関係機関と連携して取り組む。

発表論文

Svendsen ER, Yamaguchi I, Tsuda T, Guimaraes JR, Tondel M. Risk Communication Strategies: Lessons Learned from Previous Disasters with a Focus on the Fukushima Radiation Accident. Current environmental health reports 2016; 3(4): 348-359.

福 4-3

広島・長崎の平和宣言から読み解く復興ためのリスクコミュニケーション

研究組織

共同研究代表者：和泉 志津恵

(滋賀大学データサイエンス教育研究センター：教授)

共同研究者：内野 邦望

(大分大学工学研究科：大学院生)

松尾 省吾

(大分大学工学研究科：大学院生)

岩切 僚真

(大分大学工学研究科：大学院生)

呉 皓明

(大分大学工学研究科：大学院生)

受入研究代表者：佐藤 健一

(広島大学原爆放射線医科学研究所：准教授)

受入研究者：久保田 明子

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究では、リスクコミュニケーションに焦点をあて、原爆投下後の行政である広島市や長崎市が、被爆者、あるいは、日本、世界に向けて毎年、発信してきた平和宣言から、どのようにリスクに対処していたかを読み解くことを目的とする。

平成 28 年度の共同研究利用のプロジェクトでは、行政が市民とおこなうリスクコミュニケーションの時間的および空間的な変化を調べるために、1：広島市と長崎市の平和宣言についての統計的なデータ解析、2：解析結果の市別の比較、3：統計的なデータ解析方法を新たな検討、を逐次行った。研究代表者は、原医研受入研究者や共同研究者と定期的に対面的な研究交流を行い、加えて電子メールやネットワーク会議システムを利用して、連絡を取った。そして、2016 年 6 月 5 日に長崎原爆資料館にて開催された第 57 回原子爆弾後障害研究会、2017 年 1 月 25-27 日にベルクラシック甲府にて開催された第 27 回日本疫学会学術総会にて、本研究の成果の一部を発表し、研究をさらに発展させるためのフィードバックを得た。

発表論文

Satoh K, Tonda T, and Izumi S. (2016). Logistic regression model for survival time analysis using time-varying coefficients. American Journal of Mathematical

and Management Sciences, 35(4): 353-360.

富田哲治, 佐藤健一, 和泉志津恵. (2016). 広島平和宣言における単語出現頻度に基づく広島の平和観の経時変化について. 長崎医学雑誌, 91 (特集号): 176-179.

福4-4

福島における甲状腺検査被験者の不安やニーズに関する面接調査

研究組織

共同研究代表者：高村 昇

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

受入研究代表者：後藤 紗織

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：特命教授)

受入研究者：前田 正治

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

大津留 晶

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

福島県では県民健康調査の一環として、震災時18歳以下の住民を対象にした甲状腺検査を震災以後継続して行っている。先行調査の受診率は80%以上と高率であり、多くの対象者は甲状腺癌に罹患することに対する強い不安を抱えている。また、対象者が若いため、就職や結婚、妊娠・出産など将来のライフイベントへの不安や心配も強いし、これらの一部はスティグマに対する不安ともいえる。さらに、対象者本人だけでなく保護者とくに母親もまた自責の念を感じやすい。こうしたことから、長期的な視点で、かつ身体的なだけではなく心理学的な視点で彼らへの支援が必要であり、そのためにも現在の精神状態や不安・懸念等について把握する必要がある。今後は、さらに県民の精神状態の把握に努め、結果を論文化することとする。

発表論文

1. Goto A, Bromet EJ, Ota M, Ohtsuru A, Yasumura S, Fujimori K; Pregnancy and Birth Survey Group of the Fukushima Health Management Survey. The Fukushima Nuclear. Asia Pac J Public Health. 2017 Mar; 29(2_suppl): 139S-150S.
2. Murakami M, Sato A, Matsui S, Goto A, Kumagai A, Tsubokura M, Orita M, Takamura N, Kuroda Y, Ochi S. Communicating With Residents About Risks Following the Fukushima Nuclear Accident. Asia Pac J Public Health. 2017 Mar; 29(2_suppl): 74S-89S.

福 4-5

地域の保健計画策定支援を通じた専門職のヘルスリテラシー向上に資する研究

研究組織

共同研究代表者：黒田 佑次郎

(福島県立医科大学医学部公衆衛生学講座：学内講師)

共同研究者：中島 誠子

(福島県相双保健福祉事務所健康福祉部：副部長)

八代 千賀子

(飯舘村健康福祉課：保健師)

宮崎 真

(福島県立医科大学健康増進センター：副センター長)

佐倉 統

(東京大学大学院情報学環：教授)

佐藤 紀子

(福島県立医科大学医学部公衆衛生学講座：保健技師)

受入研究代表者：後藤 あや

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：准教授)

受入研究者：村上 道夫

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、県・市町村と大学研究者が連携して地域の健康課題を明らかにし、データに基づく保健計画の策定を支援し、また健康情報や施策が住民にわかりやすい形で届けられるよう、専門職のヘルスリテラシーを高める支援を行う。

今年度は相双地域の保健師を対象に、二度の研修会を実施した（参加者 17 名）。研修の前半では、地域の特徴を構造的に捉える「地域診断」の方法についての講義を行い、後半では小グループに分かれ、ワークショップ形式で、各市町村における健康課題に対する効果的・効率的な対策を考える機会とした。

研修会後のアンケートの結果、受講者全員が「話し合いは今後の保健活動に役立つと思う（そう思う・大いにそう思うと回答）」と評価し、88%が「学んだことを同僚に伝えたいと思う（そう思う・大いにそう思うと回答）」と評価した。また、自由記述欄において「他市町村の事業について知ることができた」など、保健師間の情報交換としても貢献できたと考えられる。

今後とも、健康情報や施策が住民にわかりやすい形で届けられるよう、継続的に専門職のヘルスリテラシー向上のための支援を行い、地域のエビデンスの構築、施策作成、

そして住民に還元するところまで行っていきたい。

発表論文

特になし

福 4-6

放射線災害後の放射線を含む包括的な健康
リスク要因変化の評価研究

研究組織

共同研究代表者：田淵 貴大

(大阪府立成人病センター：課長補佐)

共同研究者：藤原 翔

(東京大学社会科学研究所：准教授)

受入研究代表者：大平 哲也

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

受入研究者：高橋 秀人

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

東日本大震災のような津波や原発事故を引き起こした大規模災害時には放射線曝露状況や放射線の害の認知の変化と連動して、生活習慣やストレス状況・メンタルヘルスが悪化したり、居住環境や仕事・就労状況が変化するなど、社会的要因を含む様々な要因が影響を受ける可能性がある。そこで、本研究では、災害発生後の福島県内における放射線曝露状況だけでなく、健康リスク分布の変化や推移が互いにどのように関連しているのかについて明らかにすることを目的とする。

福島県民健康調査のデータが縦断調査であることを活用して、変化を変化で説明することができる統計解析モデル Fixed effect model を活用して、様々な健康の決定要因の変化が他の要因の変化とどのように関連しているのかに関して分析を実施する。作業工程として次の①～④を実施する：①先行研究レビューによる分析枠組みおよび詳細な分析モデルの決定（共同研究者間での情報共有や検討会議を含む）、②統計解析ソフトによる縦断調査データ（主に基本調査・こころの調査）の読み込み＋コード化、③各要因別の変化の関連の計算、④成果を論文にまとめる。

本年度、上記①を実施し、研究の具体的内容を検討した。放射線曝露に関するリスク認知等の変化が、喫煙行動や飲酒行動の変化にどのように関連しているのか、また実際の推定被曝量がその関連に影響しているのか、について分析する計画を立てた。

今後は、調査データ（基本調査＋こころの健康度・生活習慣に関する調査）の利用申請へと進め、分析を実行する。期待される成果として、放射線災害時の放射線曝露による健康への影響だけではなく、災害関連ではない健康のリスク要因の分布について明らかにできる。そのため、放射線

曝露による健康影響と向き合いつつ、より好ましい状況への変化をもたらす方策を検討するための基礎資料とできるものと考えられる。

発表論文

なし

福 4-7

放射線災害における情報受信者の社会性尺度等に着目した効果的な情報発信手法に関する研究

研究組織

共同研究代表者：飯本 武志

(東京大学 環境安全本部：准教授)

共同研究者：林 瑠美子

(名古屋大学 環境安全衛生管理室：准教授)

黒田 玲子

(東京大学 環境安全本部：助教)

高嶋 隆太

(東京理科大学 理工学部：講師)

鈴木 崇彦

(帝京大学 医療技術学部：教授)

川上 和久

(国際医療福祉大学：教授)

南風原 朝和

(東京大学 大学院教育学研究科：教授)

受入研究代表者：保田 浩志

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

災害発生直後のクライシスコミュニケーションと、災害発生の可能性を念頭においた事前の、または復旧復興時のリスクコミュニケーションは根本的に異なる。本研究では東電・福島第一原子力発電所事故発生を挟んでの前後5年間(計10年間)に、全国規模で実施された原子力利用に関する世論調査の傾向とその変化を分析して、災害前後における世論の形成傾向、それに基づく適切なリスクコミュニケーションのありかたについて定量的、統計的に考察することを目的としている。特にコミュニケーションの重要な構成要素となる情報の受信者の社会性尺度等に着目し、災害後の効果的な情報の発信、提供の仕方について具体的に提示することを将来的な目標とする。

代表研究者と共同研究者の一部が深く関与している「原子力利用に関する世論調査 http://www.jaero.or.jp/data/01jigyoyou/tyousakenkyu_top.html」の10年間に及ぶ全国定点調査(2006年～2016年：全国15～79歳男女1,200人対象、200地点を地域・市郡規模別の各層に比例配分、個別訪問留置調査)に基づくアンケートデータを利用して、その変動と要素間の相関に関する統計的意味の解析を実施している。特に、回答者、すなわち情報の受け手の普段の生活様式や行動に関する価値観を問う社会性の傾向(社会

性尺度)等に着目したクロス集計を行い、その背景にある意味の考察に着手した。その一部を、以下に示す。

この調査では、2014年より、「社会性価値観(生活意識や行動に対する価値観)」に関する質問項目を設けている。(例：街の美化や美観の保全是大事だと考えている／地域の行事・イベント、地域の祭りなどにはよく参加するほうだ／児童や若者の公共心の希薄化が気がかりだ／地域の問題や課題を行政まかせにしないで、市民も一緒に考え行動すべきだ、等。)ここでの「社会性」とは、「社会」に対してどの程度、関わりを持とうとしているか、と位置付けた。質問項目に「はい」と回答した適合数に基づいて、右表のような社会性の数値化(4区分)を図った。

適合した項目の合計数	グループ
適合項目の合計が8～15つ	社会性が高い層
適項項目の合計が3～7つ	社会性が中程度の層
適合横目の合計が1～2つ	社会性が低い層
「あてはまるものはない」	社会性がない層

たとえば2015年度のデータによれば、社会性が高い層は、他の層と比べ、ほとんどの知識を問う設問において「よく知っている」と回答する割合が高い。普段から原子力・放射線・エネルギー分野に関心を持ち、やや専門的な原子力に関する情報も入手している傾向といえる。また、社会性が高い層は、「テレビ(ニュース)」などの情報源からの情報収集は、他の層との差はあまり見られないが、「新聞」だけでなく、「雑誌」、「自治体の広報紙」、「本・パンフレット」などからも積極的に情報収集しているようである。原子力に対するイメージやベネフィットやリスクに対して、肯定的、否定的の双方ではっきりとした意見を持っている傾向があり、マスメディア等を通じて提供される様々な情報の影響を多様に受けている可能性が高い可能性があるといえる。

現在、固定設問に関する事故前後の変動傾向考察と共に、2014～2016年度の3年間のデータに絞った社会性に着目した比較検討と解釈を目的とした研究も進めている。ここで用いた社会性の定量化手法に関する適切性の検討も並行して実施しており、平成29年度も本研究を継続予定である。

本研究は、一般財団法人日本原子力文化財団による同世論調査にかかる一連の活動の支援も受けた。ここに記して謝意を表する。

福 4-8

福島原発事故後の内部被ばく検査受診の経時傾向と受診行動に関わる因子についての分析

研究組織

共同研究代表者：野村 周平

(東京大学大学院医学系研究科国際保健政策学教室：助教)

共同研究者：坪倉 正治

(南相馬市立総合病院内科：内科医師)

及川 友好

(南相馬市立総合病院脳外科：副院長)

金澤 幸夫

(南相馬市立総合病院消化器内科：院長)

森田 知宏

(相馬中央病院内科：内科医師)

ホジソン スーザン

(インペリアル・カレッジ・ロンドン公衆衛生大学院疫学統計教室：講師)

ブランギャルド マルタ

(インペリアル・カレッジ・ロンドン公衆衛生大学院疫学統計教室：講師)

受入研究代表者：村上 道夫

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究では、原発 10-40km 圏に位置する福島県南相馬市において、2011 年 7 月から 2015 年 3 月までの内部被ばく検査データベースおよび住民の避難情報データベースを用い、内部被ばく検査の受診率の経年変化およびその要因(どのような方が受診をしているか)を分析した。21 歳以上の 2011 - 2012 年度の内部被ばく検査の受診率は人口の 30.2%であったのに対し、2013 - 2014 年度は 17.9%であった。受診率や受診行動には、性別、年齢、事故前後の居住地、事故時住所の線量が関連し、これらは「被ばくリスク認知」と「検査へのアクセスの良し悪し」で説明できる部分が多かった。長期的に内部被ばく状況をモニタリングする上で、「検査」がスクリーニングや線量評価といった被ばく対策としての機能のみならず、健康不安対策を目的としたリスクコミュニケーションとしても機能し得る可能性がある。本研究の成果は、被ばくリスクが低い中、今後どのように自主参加型の内部被ばく検査を運用していくかを考察する上で役立つ情報を提供するものである。

発表論文

著者：野村周平、坪倉正治、尾崎章彦、村上道夫、ホジソン・スーザン、ブランギャルド・マルタ、西川佳孝、森田知宏、及川友好

論文題目：Towards a Long-Term Strategy for Voluntary-Based Internal Radiation Contamination Monitoring: A Population-Level Analysis of Monitoring Prevalence and Factors Associated with Monitoring Participation Behavior in Fukushima, Japan

発表誌：International Journal of Environmental Research and Public Health

発表日：4 月 9 日オンライン版

リンク：<http://www.mdpi.com/1660-4601/14/4/397>

なお、本論文は発表誌 4 月号の巻頭論文に選出され、表紙絵及び表紙記事も掲載された。

表紙絵：http://www.mdpi.com/data/covers/ijerph/big_cover-ijerph-v14-i4.png

表紙記事：<http://www.mdpi.com/1660-4601/14/4>

福 4-9

小学生等に対する効果的な放射線教育法の開発研究

研究組織

共同研究代表者：千田 浩一

(東北大学災害科学国際研究所：教授)

共同研究者：稲葉 洋平

(東北大学災害科学国際研究所：助教)

太田 洋一

(東北大学災害科学国際研究所：大学院生)

八島 幸子

(東北大学災害科学国際研究所：大学院生)

佐藤 文貴

(東北大学災害科学国際研究所：大学院生)

佐藤 行彦

(東北大学医学系研究科：非常勤講師)

受入研究代表者：大津留 晶

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

原発事故を契機に国民の多くは、放射線に対して大きな不安を募らせている。この主要因は、放射線に関する誤った知識や情報整理が不十分であることが考えられ、よって放射線教育は極めて重要性が高い。このような背景の中で、小学校低学年から放射線に関する教育が始まることとなったが、十分に分かり易い教材はあまり無く、未だ適切な教育法を模索しているのが現状である。

本研究は、小学生等に対する効果的な放射線教育法の開発研究を行うため、小学校低・中・高学年それぞれ向けの放射線教育用の教材コンテンツの作成を行い、一定の研究成果が得られた。

今後は、小学生等に対する放射線教育用の教材コンテンツをさらに充実させ、タブレット教材の開発研究を進めていきたい。

福 4-10

食品に含まれる放射性物質への態度と行動に関する研究

研究組織

共同研究代表者：竹田 宜人

(国立大学法人横浜国立大学環境情報研

究院：客員准教授)

受入研究代表者：村上 道夫

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：准教授)

受入研究者：大平 哲也

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、健康と生活状況に関するアンケート結果を用い、設問 13-8 原発事故由来の放射性物質を多く含むと考えられる食品に対する態度（食べないようにしている（24.5%）、自分自身は気にしていないが家族は積極的にそうしている（9.1%）、買っては食べないようにしていたが現在は気にしていない（39.0%）、当初から気にしていない（27.4%））別にリスクミへの参加傾向を調べたものである。その結果、リスクミに参加している人ほど、「食べないようにしている」が多く選択され、「（リスクミに）参加していない」、あるいは、「（情報を）参考にしない」人ほど気にしていないを選択する傾向が確認された。これは、リスクミに訪れることで、食べない行動を選択していることを意味しており、情報収集や自らの行為の確認にリスクミに参加している可能性を示唆している。

今後は、放射性物質を多く含むと考えられる食品に対する態度と信用できる情報源や参加したリスクミへの評価などの相関を確認し、その態度に至る理由を考察する。

発表論文

なし。今後、学会発表や学術雑誌への投稿を行う予定である。

重 1-1

DNA 損傷修復・応答因子の時系列解析

研究組織

共同研究代表者：矢野 憲一

(熊本大学パルスパワー科学研究所:教授)

受入研究代表者：鈴木 啓司

(長崎大学原爆後障害医療研究所:准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線被ばくにより誘導された DNA 二重鎖切断は、細胞の持つ DNA 損傷修復能により除去される。しかしながら、細胞の持つ DNA 損傷修復能を超えて DNA 損傷が誘発された場合には、生成した DNA 損傷を全て修復することができず、未修復のまま残されるものが出てくる。このような、残存損傷部位では、DNA 損傷応答も持続し、DNA 損傷応答因子の集積をともなう DNA 損傷情報の増幅の場となっていることが明らかになっている。このような残存損傷は、何らかのチャンスに誤修復の原因ともなり得ることから、細胞にとってはそのまま放置すべきではない DNA 損傷のはずである。そこで本共同研究では、DNA 損傷応答の分子イメージングシステムを保有する長崎大と連携し、残存損傷が、DNA 損傷修復の場として機能しているのかどうかを明らかにすることを目的とした。

今年度は、正常ヒト二倍体細胞に、蛍光タグを付けた NHEJ 因子を発現するベクターを導入し、長崎大学が保有する γ 線照射装置あるいは X 線発生装置により様々な線量の放射線を照射し、DNA 損傷修復因子の発現と DNA 損傷誘発にともなう局在性変化を追跡できる実験系の確立をめざした。

発表論文

重 1-2

放射線誘発突然変異の成立過程における、修復が困難な DNA 損傷の役割

研究組織

共同研究代表者：野田 朝男

(放射線影響研究所遺伝学部:副部長)

受入研究代表者：鈴木 啓司

(長崎大学原爆後障害医療研究所:准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線被ばくにより誘導された DNA 損傷が、ゲノム変異の原因になっていることは広く知られた事実である。しかしながら、特に転座型の変異の生成過程については、未だに不明な点が多い。一方、誘発された DNA 損傷の中に、照射後長時間残存するものがあり、これらが最終的には、誤った修復により大きな欠失や DNA 組換えを起こす可能性も考えられる。そこで本共同研究では、放射線被ばく細胞に残存する損傷が、DNA 組換えを介した遺伝子変異を誘発する可能性について検証することを目的とした。

本年度は、DNA 組換えあるいは欠失により GFP 遺伝子が発現するようにした遺伝子発現カセットを導入したヒトがん細胞を用い、放射線被ばく後の生存細胞で GFP 陽性細胞の出現を検討した。また、DNA 二重鎖切断を 53BP 1 フォーカスを指標に評価し、残存 DNA 損傷と突然変異誘導とを同時に追跡できる実験系の確立をめざした。

発表論文

重 1-3

ヒストン H2AZ ユビキチン化のゲノム安定性維持における機能の解明

研究組織

共同研究代表者：廣田 耕志

(首都大学東京理工学研究科：教授)

受入研究代表者：田代 聡

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

申請者は RNF4 というスモ化されたタンパク質をさらにユビキチン化する修飾酵素の研究を行い、ゲノム安定維持に必須の役割を果たしていることを報告している。この酵素の標的分子を質量分析により解析し、ヒストン H2AZ を同定した。RNF4 によるヒストン H2AZ のユビキチン化が、放射線による DNA 損傷に応答し誘導され、このタンパク質のクロマチンでの量的制御に関わる可能性が浮かび上がっており、今後その制御メカニズムや他のヒストンへの影響、どのようにヒストンの量的変化が修復やチェックポイントに関与するのか、など調査する。

発表論文

1. Hirota, K., Tsuda, M., Mohiuddin, Tsurimoto, T., Cohen, I.S., Livneh, Z., Kobayashi, K., Narita, T., Nishihara, K., Murai, J., *et al.* (2016). In vivo evidence for translesion synthesis by the replicative DNA polymerase delta. *Nucleic Acids Res* 44, 7242-7250.
2. Ooka, M., Kobayashi, K., Abe, T., Akiyama, K., Hada, M., Takeda, S., and Hirota, K. (2016a). Determination of genotoxic potential by comparison of structurally related azo dyes using DNA repair-deficient DT40 mutant panels. *Chemosphere* 164, 106-112.
3. Ooka, M., Takazawa, H., Takeda, S., and Hirota, K. (2016b). Cytotoxic and genotoxic profiles of benzo[a]pyrene and N-nitrosodimethylamine demonstrated using DNA repair deficient DT40 cells with metabolic activation. *Chemosphere* 144, 1901-1907.
4. Takemata, N., Oda, A., Yamada, T., Galipon, J., Miyoshi, T., Suzuki, Y., Sugano, S., Hoffman, C.S., Hirota, K., and Ohta, K. (2016). Local potentiation of stress-responsive genes by upstream noncoding transcription. *Nucleic Acids Res.*
5. Yamamoto, J., Takahata, C., Kuraoka, I., Hirota, K.,

and Iwai, S. (2016). Chemical Incorporation of Chain-Terminating Nucleoside Analogs as 3'-Blocking DNA Damage and Their Removal by Human ERCC1-XPF Endonuclease. *Molecules* 21.

重 1-4

DNA 損傷修復におけるポリコーム群の役割に関する研究

研究組織

共同研究代表者：磯野 協一

(理化学研究所 IMS-RCAI：上級研究員)

共同研究者：福戸 敦彦

(広島大細胞修復制御研究分野：大学院生)

受入研究代表者：田代 聡

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

近年、DNA 修復機構に転写制御が関わっていることが示唆されているが、その詳細はほとんど理解されていない。転写制御因子であるポリコーム群は、DNA 損傷部位に集積することが報告されている。これは DNA 修復へのポリコーム群の機能的関与を期待させるものの、その意義は不明である。我々は、DNA 損傷応答マスターキナーゼ ATM が二本鎖切断 (DSB) 誘導的にポリコーム群の 1 つ PHC2 を直接的にリン酸化するという実験証拠を得た。この事実は DNA 損傷応答機構における転写制御の意義を解明する端緒となると考えた。

本共同研究では、PHC2 リン酸化がどのように DNA 損傷応答に寄与しているかを細胞イメージング手法によって調査している。実験材料は、GFP-PHC2 あるいはそのリン酸化部位点変異型が安定的に発現する U2OS 細胞である。昨年度までに、放射線照射後の Proximity Ligation Assay によって GFP-PHC2 およびその点変異型は DSB マーカーである γ H2AX と共局在することを示した。これらの結果は PHC2 がリン酸化の有無にかかわらず損傷部位にリクルートされることを示唆している。加えて、DNA 修復に PHC2 が関与している可能性を期待させた。本年度において、DNA 修復進行状態を理解する一環として、 γ H2AX foci の経過観察をおこなった。興味深いことに、コントロール細胞での γ H2AX foci 数は放射線照射 10 分後にピークに達したが、点変異型細胞でのピークは 10 分を超え 30 分後であった。この結果は点変異型細胞では DNA 修復が遅れていることを示唆するものである。PHC2 リン酸化部位の点変異マウスを作製し、その由来神経幹細胞の放射線ダメージ応答性を調査してみると、U2OS 細胞と同様の結果を得た。一方、PHC2 リン酸化は遺伝子発現制御には影響しないことも示唆された。したがって、PHC2 リン酸化は遺伝子発現制御とは独立した翻訳後修飾であり、DNA

修復過程に与していると結論づけられる。現在、ATM-PHC2 アクシスによる DNA 修復機構という論旨で執筆中である。

発表論文

なし

重 1-5

エピゲノム修飾および転写後調整による生殖細胞の発生制御

研究組織

共同研究代表者：吉田 進昭

(東京大学医科学研究科：教授)

共同研究者：小沢 学

(東京大学医科学研究科：准教授)

受入研究代表者：本田 浩章

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

研究内容：

哺乳動物の生殖細胞の発生過程において、ヒストンおよび DNA のエピジェネティックな修飾が著しく変動することが知られており、それらの修飾を調整する遺伝子を欠損させたマウスの多くが不妊の表現型を示すことから、生殖細胞の正常な発生においてエピジェネティックな修飾が極めて重要な役割を果たしていることが示唆される。申請者はこれまでの共同研究においてヒストン H3K4me3 および H3K36me2 を選択的に脱メチル化する酵素 Fbx110 が持続的精子形成に重要な役割を果たしていることを明らかにし原著論文として報告している。本年度は、Fbx110 のホモログである Fbx111 の精子形成における遺伝子機能についての解析を行った。その結果、生殖細胞特異的な Fbx111 欠損オスマウスの精巣では (1) 未分化精原細胞が有意に増加すること、その一方で (2) 精原細胞の減数分裂への移行が著しい障害を受け雄性不妊になることを突き止めている。

今後は、Fbx111 欠損に起因した精原細胞の発生障害のメカニズムについて詳細に検討することで、同遺伝子の精子形成における役割を明らかにする

発表論文

なし

重 1-6

放射線ゲノムストレスへの応答と細胞分化制御を繋ぐ新規中心体パスウェイの解明

研究組織

共同研究代表者：猪子 誠人

(愛知県がんセンター研究所腫瘍医化学部：主任研究員)

受入研究代表者：宮本 達雄

(広島大学原爆放射線医科学研究所：講師)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究目的は、申請者の先行する分化培養システムを放射線など様々なゲノムストレス下に置くことで、DNA 損傷応答と細胞分化制御を繋ぐ新規パスウェイの探索に努めることである。電離放射線などのゲノムストレスは生物界の脅威であり、正確な分子応答機序の理解が求められる。その基本となる染色体上の遺伝子監視や修復機構の分子理解は近年大発展を遂げた。しかし、より複雑な細胞分化とゲノムストレス応答との相関理解は、分化技術の限界もあり未だ暗い。特に分化増殖に伴う染色体サイクルと密に関連する中心体は、パスウェイ相関が期待されつつも微細構造ゆえに解析が遅れているため、申請者の保有する染色体管理と分化統制の中継を示唆する中心体分子群 (猪子ら 2012JCB 等) の利活用によって、重点解析の対象とする。

本年度は、過密培養で高度に組織化する生体に極めて近い独自の正常上皮分化培養系の多角的な確認を行い、より強固なエビデンスと共に実験系を確立することができた。これまで不明瞭だった分化の分子基盤も経時的なマーカー観察により、ようやくはっきりしたところである。同時に仮説の補完に欠かせないゲノム編集に必要な薬剤自然耐性濃度やエレクトロポレーションによる遺伝子導入の基本的な条件をこの実験の難しい初代培養系で決定することができた。先行するいくつかの中心体分子を破壊している最中である。

今後は、受入研究者の助力を得、このような分化系で中心体分子群のゲノムストレス下での分化統制を分子レベルの関わりとして理解する。具体的には、当培養システムに対する放射線照射非処理群および処理群での、① mRNA 発現解析、②自身の中心体分子群特異抗体による細胞内局在解析および、③免疫沈降産物の MS 解析の、それぞれの結果比較からなる。また仮説の実証として、受入研究者が得意とするゲノム編集を導入させる。癌細胞ではストレスに応答した中心体の過剰複製が知られており、染色体不安定性を助長している。しかし正常な細胞ではストレス環境

下でも中心体数の異常は起らない。申請者の共同研究では、独自の中心体プローブと分化システムによって、創薬や再生医療の標的となり得る新規ストレス応答経路の導出が期待される。

発表論文

なし。

重 1-7

ヒストンメチル化修飾による染色体安定性制御機構の解析

研究組織

共同研究代表者：小林 純也

(京都大学放射線生物研究センター：准教授)

共同研究者：河村 香寿美

(京都大学放射線生物研究センター：大学院生)

受入研究代表者：本田 浩章

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

ゲノム DNA はヒストンタンパク質とともにヌクレオソーム構造を形成し、さらに高度に凝縮してクロマチン構造をとってゲノム情報の安定性を維持している。しかし、放射線などでいったん DNA に損傷が発生すると、損傷 DNA を修復するためにクロマチン構造が弛緩する（クロマチンリモデリング）必要が生じる。近年の研究からクロマチンリモデリングには様々なヒストン修飾が関わるということが明らかになっているが、DNA 修復制御との関わりは明らかでない。受入研究者の本田らは、遺伝子発現制御におけるクロマチンリモデリングに機能する脱メチル化酵素のノックアウトマウスを作製して解析したところ、ヒストン脱メチル化制御欠損が染色体不安定を誘発することを示唆する所見を得た。それ故、ヒストンメチル化修飾因子と染色体・ゲノム安定性の関係を明らかにするため、ノックアウトマウス由来細胞を用いて、DNA 損傷応答についてウエスタンブロットおよび免疫蛍光染色法で検討することとした。DSB 損傷マーカーである γ H2AX をウエスタンブロット法で検討すると、ノックアウト細胞では γ 線非照射時でも検出され、通常増殖時の DSB 損傷の蓄積が示唆された。免疫蛍光染色法では γ 線非照射時に γ H2AX フォーカスの顕著な出現は見られなかったが、一方で DSB 部位でのフォーカス形成が知られる 53BP1 は非照射時でも欠損細胞で検出された。以上の結果から、脱メチル化酵素が欠損すると DSB 損傷が蓄積される可能性が示唆され、この脱メチル化酵素の DSB 損傷応答における役割について、ヒト細胞も含めてさらなる解析が必要である。

発表論文

ありません。

重 1-8

DNA 損傷応答分子 53BP1 発現による甲状腺濾胞性腫瘍術前診断マーカーの開発

研究組織

共同研究代表者：大坪 竜太

(長崎大学病院腫瘍外科：助教)

共同研究者：佐藤 綾子

(長崎大学医歯薬学総合研究科腫瘍外科：大学院生)

松田 勝也

(長崎大学原爆後障害医療研究所腫瘍・診断病理学：助教)

Mussazhanova Zhanna

(同：機関研究員)

受入研究代表者：中島 正洋

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

甲状腺濾胞性腫瘍の診断は、術後検体を病理学的に検索し被膜浸潤や脈管浸潤を同定することで良悪の鑑別がなされていて、術前診断は不可能とされている。DNA 損傷応答 (DDR) 分子 53BP1 は DNA 二重鎖切断 (DSB) 部位に集積する核内分子で、個々の核内フォーカス (NF) は DSB1 個に相当する。本研究では、53BP1 NF 発現の濾胞性腫瘍の鑑別診断への応用の可能性と GIN の関与を検討した。

濾胞腺腫 (FA) 27 例、微少浸潤型濾胞癌 (MFC) 28 例、広範浸潤型濾胞癌 (WFC) 14 例を対象に、NF を蛍光免疫染色解析した。発現型は 2 個以下を低 DDR 型、3 個以上または径 $1\mu\text{m}$ 以上の NF を高 DDR 型とした。GIN 指標として、FA 8 例、MFC 10 例、WFC 9 例から DNA を抽出し、ゲノムコピー数変化をアレイ CGH 解析した。NF 発現は被膜直下にはほぼ均一に分布していた。FA、MFC、WFC の総 NF の平均発現率は各々 15.4、31.4、40.1%、高 DDR 型の平均発現率は各々 1.9、6.3、11.1%であり、いずれも悪性度に伴って有意に ($p<0.001$) 増大した。平均ゲノムコピー数変化は、FA、MFC、WFC 各々 257、322、1208Mb で、悪性度に伴って増大する傾向はみられたが、有意差は明らかでなかった ($p=0.656$)。53BP1NF の増加は濾胞性腫瘍の悪性化に伴う GIN を反映することが示唆された。53BP1 蛍光免疫染色は濾胞性腫瘍の良悪性の鑑別に有用であり、術前診断に応用できる可能性がある。現在、甲状腺腫瘍の術前診断に用いられる穿刺吸引細胞診の検体や術中捺印細胞診検体で、本法の有用性を解析中である。髄様癌や乳頭癌での 53BP1 の過剰発現やフォーカス形成

と、腺腫様甲状腺腫での発現陰性が確認され、濾胞癌症例の集積が待たれる。

発表論文

なし

重 1-9

ゲノム障害に対する生体恒常性維持・変容機構の解明

研究組織

共同研究代表者：安田 武嗣

(量研機構 放医研：主任研究員)

受入研究代表者：中沢 由華

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究では、ゲノム障害に対する生体防御機構に関して、我々が発見したヒト RAD52 のアセチル化修飾の役割を研究した。RAD52 は、DNA 二重鎖切断 (DSB) 後に、DSB 部位に集積し、同様に DSB 部位に集積した p300/CBP によってアセチル化修飾を受けた。また、その後、DSB 部位で SIRT2 と SIRT3 により脱アセチル化された。RAD52 のアセチル化は、ATM キナーゼに依存しており、これは、ATM キナーゼ阻害により、RAD52 や p300/CBP および SIRT2/SIRT3 の DSB 部位への集積が阻害されるためであった。アセチル化部位の変異により、アセチル化を阻害すると、RAD52 は、一度は DSB 部位に集積するが、その後、野生型よりも早い段階で DSB 部位から離れた。また、DNA 相同組換えに必須である RAD51 の DSB 部位への集積も阻害された。その結果、放射線照射による細胞内の DNA 相同組換えが、アセチル化部位変異により阻害された。一方、SIRT2 や SIRT3 をノックダウンした場合も、RAD52 をノックダウンした場合と同程度、DNA 相同組換え修復が阻害された。このことから、RAD52 の脱アセチル化も DNA 相同組換えに必要であることが示唆された。このように、RAD52 のアセチル化修飾が DNA 相同組換え修復に重要な役割を果たすことを明らかにできた。今後は、すでに同定している他の非ヒストンタンパク質のアセチル化修飾について、ゲノム障害応答に対する役割を明らかにすることを目指す。

発表論文

重 1-10

低酸素環境下における放射線応答ゲノムデータベース集合知解析

研究組織

共同研究代表者：坊農 秀雅

(情報・システム研究機構ライフサイエンス

統合データベースセンター：特任准教授)

共同研究者：小野 浩雅

(情報・システム研究機構ライフサイエンス

統合データベースセンター：特任助教)

受入研究代表者：谷本 圭司

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

低酸素環境下におけるゲノム損傷応答の分子機構を解明するために、公共データベースにある網羅的遺伝子解析 (マイクロアレイや次世代シーケンサー) データから、集合知を利用した手法により関連遺伝子・因子を選別・解析し、ゲノム損傷応答機構の全体像の描出を試みた。

まずは、公共遺伝子発現データベースから、低酸素環境下における遺伝子発現マイクロアレイ解析データを抽出し、それぞれの解析に用いられた材料、実験条件などの情報を検討し、実験条件の揃ったデータを選別した。それらの登録データから低酸素刺激に応答し発現が変動する遺伝子群を抽出し、リストアップして、比較検討した。その結果、低酸素環境下がん細胞、および、正常細胞では DNA 損傷応答遺伝子発現がシステミックに抑制されている様子が明らかとなった。正常細胞に比べて、がん細胞でその傾向は顕著であった。遺伝子ノックダウン等の詳細な解析により、低酸素環境下におけるシステミックな遺伝子発現抑制が機能的な DNA 損傷応答の抑制に繋がっていることが確認された。

現在、NGS 解析を含めた公共データベースのさらなる集合知解析に加えて、オリジナルの網羅的解析結果を加えて全体像の描出を試みるとともに、それらを利用した放射線治療に関連するマーカーや分子標的の同定、新しい治療法開発研究を進めている。

発表論文

投稿中

重 1-11

機械学習を用いたゲノム損傷修復に関する
画像解析

研究組織

共同研究代表者：斉藤 典子

(熊本大学発生医学研究所：准教授)

共同研究者：安田 洋子

(熊本大学発生医学研究所：大学院生)

坂本 智代美

(熊本大学発生医学研究所：技術支援)

受入研究代表者：田代 聡

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

ウインチャーム (wndchrm) は、生物画像を主な対象とした機械学習を用いた画像解析アルゴリズムで、ユーザがクラス定義した画像群をもとに学習し、分類器を作成する。分類精度の測定、クラス間の形態の類似度 / 非類似度を測定・可視化、さらには新規画像のクラス属性を推定することができる。本研究では、胃がん患者組織の細胞画像をもとに、病態を高精度に分類することを目的とした。胃がんの組織マイクロアレイを HE (ヘマトキシリン・エオシン) 染色し、正常、胃がん (グレード I、II、III) の組織画像群を、低倍率又は高倍率で多数取得し、画像データベースを構築して、ウインチャーム解析に適用した。その結果、低倍率画像群を学習に用いると、より高い精度でがんと正常を分類可能な解析条件が得られた。これは、局所的な細胞形態よりも、組織の構築などの広範な形態情報が有用であることを示唆している。一方で一般的に、細胞核構造は、細胞の種類や状態に特徴的で、臨床病理においては、がんなど疾患の確定診断の際により指標とされてきた。よって、今後、がんと正常細胞の核内の違いを定量的に検索することも試みる。

発表論文

1. Tomita, S., Abdalla, M. O. A., Fujiwara, S., Yamamoto, T., Iwase, H., Nakao, M*. and Saitoh, N.* Roles of long non-coding RNAs in chromosome domains. *WIREs RNA*, 2016 doi: 10.1002/wrna.1384.
2. Nakayama, T., Saitoh, N., Morotomi-Yano, K., Yano, K.I., Nakao, M, Saitoh, H*. Nuclear extrusion precedes discharge of genomic DNA fibers during tunicamycin-induced neutrophil extracellular trap-

osis (NETosis)-like cell death in cultured human leukemia cells. *Cell Biol Int*, 40(5): 597-602, 2016

3. Matsumoto, A., Sakamoto, C., Matsumori, H., Katahira, J., Yasuda, Y., Yoshidome, K., Tsujimoto, M., Goldberg, I. G., Matsuura, N., Nakao, M., Saitoh, N.*, Hieda, M.* Loss of the integral nuclear envelope protein SUN1 induces alteration of nucleoli, *Nucleus*, 7: 68-83, 2016

重 1-12

次世代シーケンサーを使った染色体二重鎖切断部位の解析

研究組織

共同研究代表者：花田 克浩

(大分大学臨床医工学センター：助教)

受入研究代表者：中沢 由華

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

受入研究者：田代 聡

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線は、DNA をランダムに切断するといわれているが、実際に染色体のどの領域のどの配列を切断するのかという点を明確にしている研究は少ない。そこで、本研究は、放射線照射後に、染色体のどの領域のどの配列で切断が起きているか、次世代シーケンサーを用いて明らかにするという目的で研究を行った。本研究では、様々な手法を用いて、DNA 切断断片を効果的に回収する方法に関する検証を行なった。その結果、最も効率よく回収できるのはパルスフィールド電気泳動を用いた手法であることが分かった。その手法で回収した DNA 切断断片は、次世代シーケンサーで解析できることも明らかになった。

今後は、この手法の精度を高める検証を重ね、放射線によって引き起こされる DNA 二重鎖切断の切断部位の配列を明らかにしたいと考えている。切断部位解析には、長崎大学の支援を受けてながら、その解析を行いたい。また、この解析から同定した DNA 切断部位が、実際の染色体異常の原因となるかという点を広島大学との共同研究で検証したい。この手法を完成されることにより、放射線が引き起こす DNA 切断の影響を従来法よりも詳細に解析できるのではないかと期待している。

発表論文

なし

重 1-13

ヒストン H3K36 メチル化を介したゲノム損傷修復機構

研究組織

共同研究代表者：浦 聖恵

(千葉大学理学部：教授)

共同研究者：檜尾 牧子

(千葉大学医学部：博士研究員)

鈴木 慈

(千葉大学理学部：修士1年生)

北谷 育子

(千葉大学理学部：学部4年生)

受入研究代表者：田代 聡

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

ヒストン H3、36 番目のリジン残基のメチル化 (H3K36me2/3) は進行中の転写をマークする分布を示すが転写との繋がりが判然としない。私達は H3K36me 酵素の一つで 4p- 症候群の原因である Whsc1 が、DNA 損傷応答因子と複合体を形成する事を見出した。さらに欠損マウスの表現型からゲノム維持への関与が示唆された。そこで本研究では、ヒストン H3K36 メチル化酵素 WHSC1 の関与を明らかにするために、田代博士の研究室で(1)レーザー照射による DNA 二本鎖切断 (DSB) 損傷時の WHSC1 の挙動を、また一方で(2) WHSC1 欠損細胞で、既存の DSB 応答因子の共同の異常を共焦点顕微鏡を用いて観察した。

(1)の解析では、C- 末に HA- タグを付加した WHSC1 を微量に発現する U2OS 細胞株を樹立して、DSB 形成後の WHSC1 を HA 染色で解析したところ、既存の報告とは異なって、損傷部位への集積は確認されなかった。

(2)の解析では、相同組み換えにより WHSC1 を欠損したヒト B 細胞株 Nalm6 に X 線を照射して DSB 形成を誘導して、相同組み換え修復を担う Rad51 の DSB 部位への集積異常を共焦点顕微鏡を用いて定量的に観察した。その結果、既存の報告とは逆に Rad51 の集積は、WHSC1 欠損細胞で野生型に比べて促進される結果を得た。

これまでの研究から WHSC1 の DSB への関与は示唆されているので、以上の結果は WHSC1 が既報告に反してゲノムの特定の領域に限って機能する可能性を示唆している。今後、WHSC1 欠損細胞における DNA ストレス応答を詳細に解析して、DSB に対する今回の結果と合わせて論文にまとめる予定である。

発表論文

準備中

重 1-14

核内受容体タンパク質のリガンド依存的な結合様式の解明

研究組織

共同研究代表者：楯 真一

(広島大学理学研究科：教授)

共同研究者：栃尾 直哉

(広島大学理学研究科：特任准教授)

上脇 隼一

(広島大学理学研究科：研究員)

伊藤 慎一郎

(広島大学理学研究科：学生)

中嶋 直大

(広島大学理学部：学生)

受入研究代表者：田代 聡

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

核内受容体 PPAR γ は、基質に応じて転写共役因子のリクルートを代える。転写共役因子の PPAR γ 結合領域は LxxLL モチーフという相同的な配列をもつが、その周辺部も安定な立体構造を持たない天然変性領域であることが分かっている。安定な立体構造を持たない領域がどのように PPAR γ に選択的に認識されるかに関する分子機構は良く理解されていない。本年度は、転写共役因子 SRC1 の N 末端部にある LxxLL モチーフを含む領域の構造機能特性を解析した。

研究では、SRC1 (605-663) の領域を対象とした (SRC1n とする)。NMR による解析から SRC1n は、5% 程度の過渡的ヘリックス構造しか持たない天然変性領域であることが分かった。変異を導入することにより SRC1n の過渡的に形成されるヘリックス含量を変化させ、TR-FRET により SRC1n-PPAR γ の相互作用強度を系統的に測定することで低存在率構造と結合活性の相関を解析した。その結果、低存在率のヘリックス含量が増えると結合能が低下するという新たな知見を得た。

発表論文

1. Tochio, N., Umehara, K., Uewaki, J., Flechsig, H., Kondo, M., Dewa, T., Sakuma, T., Yamamoto, T., Saitoh, T., Togashi, Y., Tate, S. (2016): Non-RVD mutations that enhance the dynamics of the TAL repeat array along the superhelical axis improve

- TALEN genome editing efficacy. *Scientific reports*. 6, 37887.
2. Fujisaki, H., Yonezawa, Y., Shiga, M., Maragliano, L., and Tate, S. (2017): Exploring reaction pathways for peptidylprolyl-isomerase, *Biophys. J.* 112, p449a.
 3. Kuwasako, K., Nameki, N., Tsuda, K., Takahashi, M., Sato, A., Tochio, N., Inoue, M., Terada, T., Kigawa, T., Kobayashi, N., Shirouzu, M., Ito, T., Sakamoto, T., Wakamatsu, K., Guntert, P., Takahashi, S., Yokoyama, S., and Muto, Y. (2017): Solution structure of the first RNA recognition motif domain of human spliceosomal protein SF3b49 and its mode of interaction with a SF3b145 fragment. *Protein science*. 26, 280-291.
 4. Hiraishi, N., Maruno, T., Tochio, N., Sono, R., Otsuki, M., Takatsuka, T., Tagami, J., and Kobayashi, Y. (2017): Hesperidin interaction to collagen detected by physico-chemical techniques. *Dental materials*. 33, 33-42.
 5. Makino, A., Abe, M., Ishitsuka, R., Murate, M., Kishimoto, T., Sakai, S., Hullin-Matsuda, F., Shimada, Y., Inaba, T., Miyatake, H., Tanaka, H., Kurahashi, A., Pack, C.G., Kasai, R.S., Kubo, S., Schieber, N.L., Dohmae, N., Tochio, N., Hagiwara, K., Sasaki, Y., Aida, Y., Fujimori, F., Kigawa, T., Nishibori, K., Parton, R.G., Kusumi, A., Sako, Y., Anderluh, G., Yamashita, M., Kobayashi, T., Greimel, P., and Kobayashi, T. (2017): A novel sphingomyelin/cholesterol domain-specific probe reveals the dynamics of the membrane domains during virus release and in Niemann-Pick type C. *FASEB journal*. 31, 1301-1322.
 6. 梶 真一, TALE タンパク質の超らせん運動と DNA 配列認識, 生物物理, in press (2017).

重 1-15

細胞ストレスに対する小胞体機能変化の解析

研究組織

共同研究代表者：今泉 和則

(広島大学医歯薬保健学研究院：教授)

共同研究者：金子 雅幸

(広島大学医歯薬保健学研究院：准教授)

金本 聡自

(広島大学医歯薬保健学研究院：講師)

浅田 梨絵

(広島大学医歯薬保健学研究院：助教)

崔 旻

(広島大学医歯薬保健学研究科：大学院生)

崔 香

(広島大学医歯薬保健学研究科：大学院生)

前岡 侑二郎

(広島大学医歯薬保健学研究科：大学院生)

呉 艶

(広島大学医歯薬保健学研究科：大学院生)

尾崎 陽介

(広島大学医歯薬保健学研究科：大学院生)

鈴木 麻利子

(広島大学医歯薬保健学研究院：技術補佐員)

齋藤 敦

(広島大学医歯薬保健学研究院：准教授)

松久 幸司

(広島大学医歯薬保健学研究院：助教)

受入研究代表者：長町 安希子

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究課題は、細胞に対する様々な環境ストレスによって小胞体機能へどのような影響が生じるか検討し、またその際のストレス応答経路の分子機構を明らかにする目的で行った。今年度は下記の2点の研究を行った。(1) X線照射によるDNA損傷応答機構における小胞体機能について解析した。初代培養アストロサイトに対してX線照射処理すると、小胞体膜局在転写因子OASISの発現が誘導されることを見出した。また、発現誘導に伴いOASISが小胞体だけでなく核膜にも局在することを発見した。現在、その生理的意義について検討している。(2) 前立腺がん細胞LNCapにおいて、小胞体膜局在転写因子AibZIPがアン

ドロゲン依存的に発現誘導する分子機構を解明し、さらに、AIBZIP が LNCap 細胞の細胞増殖を制御していることを明らかにした。

発表論文

Cui X, Cui M, Asada R, Kanemoto S, Saito A, Matsuhisa K, Kaneko M, Imaizumi K.: The androgen-induced protein AIBZIP facilitates proliferation of prostate cancer cells through downregulation of p21 expression. *Scientific Reports*, 6: 37310, 2016.

重 1-16

DNA 損傷修復における DNA ライセンス化制御機構の解明

研究組織

共同研究代表者：工藤 保誠

(徳島大学大学院医歯薬学研究部:准教授)

受入研究代表者：河合 秀彦

(広島大学原爆放射線医科学研究所:助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

細胞は細胞周期を繰り返して増殖し、その間に遺伝情報を正確に複製し、分裂することにより新しく細胞が生み出される。遺伝情報の正確な複製は種の保存や個体形成の基本であるため、染色体は一度だけ、正確に複製される必要がある。その機構を DNA ライセンス化といい、ヒトではそのために極めて精巧なメカニズムを持ち、その破綻が発癌の原因となる。細胞周期の進行において、ゲノム DNA 上の傷害をモニターする細胞周期チェックポイント制御機構を幾重にも有しているが、その際の DNA ライセンス化制御の詳細は未だ明らかにされていない。そこで、本研究では、DNA 損傷応答における DNA ライセンス化制御の分子機構を明らかにする事を目的として共同研究を行った。細胞静止期である G0 期において、DNA ライセンス化因子である CDT1 は APC/C^{Cdh1} によりユビキチン分解されることを明らかにし、G1 期の移行時に Cyclin/CDK によりリン酸化され、安定化することを見出した。

G0 期から G1 期に活性がある Cyclin/Cdk として、Cyclin C/Cdk3 が知られている。そこで、Cyclin C と CDT1 の結合を検討したところ、G1 期初期における Cyclin C と CDT1 の結合が認められ、CDT1 の G1 期におけるリン酸化に Cyclin C/Cdk3 が関与することが示唆された。細胞周期の進行をリアルタイムに観察できる蛍光プローブとして広く知られている Fucci では、CDT1 が G1 期に発現が高く、S/G2/M 期に発現が低いことから、CDT1 の分解に関わる領域、アミノ酸 30 番から 120 番までを、蛍光タンパク質と融合して、G1 期の細胞の蛍光プローブとして用いられている。我々は、Fucci を導入した細胞が、G0 期において CDT1 の発現を示すことから、アミノ酸 30 番から 120 番以外の部位に APC/C^{Cdh1} による分解ドメインが存在すると考えている。さらに、その分解ドメイン近傍に Cyclin C/Cdk3 によるリン酸化部位があると推測している。CDT1 には、Cyclin/Cdk によりリン酸化予測部位 (TP あるいは SP) が 17 箇所あり、そのうちアミノ酸

30 番から 120 番以外では 13 箇所存在する。今後は、質量分析を用いたリン酸化部位の特定を行い、リン酸化による分解抑制機構を明らかにしたいと考えている。以上より、CDT1 が G0 期において、APC/C^{Cdh1} によるユビキチン分解され、G1 期へ移行する際に Cyclin C/Cdk3 によりリン酸化されることにより、APC/C^{Cdh1} によるユビキチン分解から免れ、安定化し、タンパク量が増加することにより、DNA 複製準備のための複合前複合体が形成されることが明らかとなった。

発表論文

なし

重 1-17

放射線照射後の突然変異に関わる DNA 二本鎖切断修復選択性の研究

研究組織

共同研究代表者：柴田 淳史

(群馬大学先端科学研究指導者育成ユニット:助教)

共同研究者：磯野 真由

(群馬大学先端科学研究指導者育成ユニット:研究員)

受入研究代表者：山内 基弘

(長崎大学原爆後障害医療研究所:助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線照射は様々な細胞傷害を誘発するが、その中でも DNA 二本鎖の切断 (DNA double strand break: DSB) は細胞の運命を決定しうる最も重篤な損傷である。古くから DSB 連結後に欠失や転座等の突然変異が生じることは知られているが、いくつか存在する DNA 修復経路の中で、細胞がどの経路を選択し、どのように DSB を連結し突然変異を引き起こすかについては未だ明らかになっていない。本研究では、欠失変異を中心とした突然変異を導く修復経路及びその経路選択機構の解明を目指す。

放射線照射後に NHEJ がどのようにして修復の第一選択になるかを、NHEJ 分子である Ku80 に着目しモニタリングするため、群馬大学が所有する超高解像度顕微鏡 OMX を用いて Ku80 foci の可視化を試みた。抗体濃度や固定方法を含め様々な条件検討を行ったが、放射線未照射の状態でも Ku80 foci が観察され、現時点での申請者らが所有する検体では放射線誘発による Ku80 foci の検出は困難であることが明らかになった。現在は Ku80 がどのようにして欠失変異を抑制するかを検討するため、CRISPR-Cas9 システムを用いた Ku80 ノックアウト細胞の作成を、東京大学・安原崇哲助教との共同研究により進めている。今後は超高解像度顕微鏡 OMX と CRISPR-Cas9 システムを合わせた分子生物学アプローチにより、突然変異に関わる DNA 二本鎖切断修復選択性の解明を目指す。

発表論文

なし

重 1-18

家族性乳癌における DNA 修復能測定法の開発

研究組織

共同研究代表者：田中 彩

(長崎大学腫瘍外科：医員)

共同研究者：矢野 洋

(長崎大学腫瘍外科：講師)

受入研究代表者：光武 範吏

(長崎大学原爆後障害医療研究所：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

家族性乳癌の原因遺伝子としては BRCA1/2 がよく知られており、これらの遺伝子機能の欠損で、DNA 相同組み換え修復に障害が生じることが分かっている。そこで本研究では、乳癌細胞における DNA 修復能、特に相同組み換え能を直接測定できる実験系の開発を行うことを目的としている。現在、DNA 修復能の評価に Rad51 を用いた免疫蛍光染色法を用い、BRCA1 の発現状態の異なる細胞株を用いて評価を行っている段階である。今後はオラパリブなどの PARP 阻害剤を使用して薬物投与による DNA 修復能の変化を観察する予定である。また、BRCA の siRNA を用いて BRCA 機能欠損状態を作り出し、より詳しく DNA 修復能の変化を染色法で評価できるプロトコルを作成していく。

現在は細胞株での実験をすすめているが、同時に若年性乳癌、家族歴を認める乳癌症例の手術検体から細胞培養を行っている。これらの細胞を用いて実際の乳癌症例における DNA 修復能の評価を今後行っていきたいと考えている。

発表論文

なし

重 1-19

細胞内環境に特有のゲノム損傷修復関連反応の分子機構解析

研究組織

共同研究代表者：松永 司

(金沢大学医薬保健研究域薬学系：教授)

共同研究者：若杉 光生

(金沢大学医薬保健研究域薬学系：准教授)

岩崎 真波

(金沢大学大学院医薬保健学総合研究科：大学院生)

小田桐 周平

(金沢大学大学院医薬保健学総合研究科：大学院生)

石井 利実

(金沢大学医薬保健学域薬学類：学部生)

受入研究代表者：河合 秀彦

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

細胞内環境での高次なゲノム損傷修復反応を理解するために、我々はこれまでに開発した各種ゲノム損傷検出系を駆使して、1) ゲノム損傷修復因子の不安定化を誘導する低分子化合物の同定とその応用、2) 超高感度 DNA 損傷検出系で発見した新規のゲノム損傷修復反応の解析、3) G0/G1 期に特徴的な DNA 損傷応答反応の解析、を進めている。本共同研究では、siRNA ライブラリースクリーニングを利用して各反応のキーとなる因子を同定し、各々の分子メカニズムの解明に役立てることを目的とした。

今年度の各々の進捗状況として、1) では昨年度の共同研究で同定したユビキチン E3 リガーゼと基質との相互作用を明らかにし、そこに関わるプロテインキナーゼのスクリーニングを現在行っている。2) ではヌクレオチド除去修復欠損下で見られる修復反応に関わる因子を探索し、p53 とユビキチン・プロテアソーム系の関与が示唆された。一方、3) では休止期細胞で見られるヌクレオチド除去修復に依存した二次的 DNA 損傷の生成に関して、ssDNA ギャップ生成に関与する因子をほぼ同定でき、DNA 二本鎖切断生成についてはスクリーニングの準備を行った。

発表論文

なし

重 1-20

ゲノム損傷修復における核膜の役割

研究組織

共同研究代表者：平野 泰弘

(大阪大学大学院生命機能研究科：助教)

共同研究者：平岡 泰

(大阪大学大学院生命機能研究科：教授)

衣笠 泰葉

(大阪大学大学院生命機能研究科：大学院生)

受入研究代表者：田代 聡

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

核膜タンパク質は、ゲノムとの相互作用を通してゲノムの核内への効率的な収納に寄与する一方で、様々なダメージによって損傷を受けたゲノムを一時的に不活化、保護し、安全に修復を行う基盤として働くことも示唆されている。そこで本研究は、核膜タンパク質が少なくかつ遺伝子操作の容易な分裂酵母を用いて、進化的に高度に保存された核膜タンパク質 Lem2 によるゲノム損傷修復機構の解析を行った。その結果、Lem2 は培養条件依存的にゲノムの複製ストレスを緩和する働きを持つこと、この緩和には Lem2 の C 末端領域が必須であることが明らかになった。今後はこの緩和過程の詳細な分子メカニズムの解析を進めるとともに、ヒトなどの高等真核生物においても同様の働きを持つかについて解析を進める。

発表論文

なし

重 1-21

ゲノム編集を用いた DNA 損傷応答遺伝子破壊株の作製と解析

研究組織

共同研究代表者：島田 幹男

(東京工業大学科学技術創成研究院：助教)

共同研究者：松本 義久

(東京工業大学科学技術創成研究院：准教授)

松宮 雅典

(東京工業大学科学技術創成研究院：大学院生)

受入研究代表者：松浦 伸也

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

昨年に引き続き、本研究ではゲノム編集を用いて哺乳類細胞において放射線応答遺伝子の遺伝子破壊細胞株を作製し、遺伝子機能の解析を行うことを目的とする。特に非相同末端結合の修復経路に着目し、XRCC4 遺伝子の破壊をヒト大腸癌細胞である HCT116 を用いて行った。昨年までの段階で XRCC4 欠損クローンを単離しており、本年度はシーケンス解析、および機能解析を実施した。シーケンス解析の結果少なくとも一つのアリルでは 8 塩基の欠損を持つことがわかった。また、幾つかのクローンを免疫染色法で解析したところ、XRCC4 の発現が著しく減少していた。さらに XRCC4 欠損細胞では未処理の状態でも二重鎖切断のマーカーであるリン酸化 H2AX 陽性細胞が増加していた。これらの結果は XRCC4 を欠損することにより代謝により生じた DNA 損傷が修復されずに残存することを示唆している。

図 1 XRCC4 欠損細胞のシーケンス解析
ゲノム編集を行った XRCC4 のエクソン 2 のゲノム DNA のシーケンス解析。

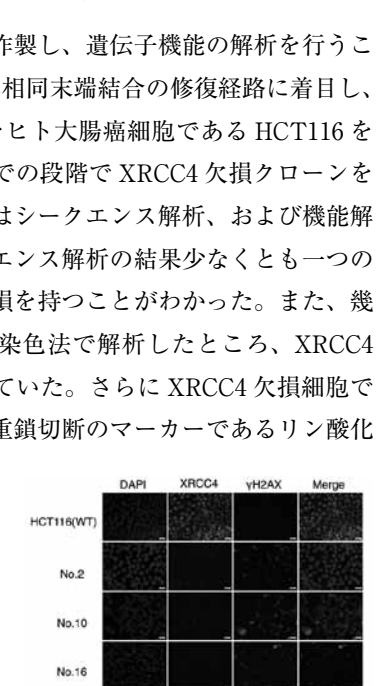


図 2 XRCC4 欠損細胞を用いた免疫染色法
XRCC4 抗体 (緑) とリン酸化 H2AX 抗体 (赤) により染色を行った。

発表論文

松宮雅典, 平成 28 年度 東京工業大学総合理工学研究科創造エネルギー専攻 修士論文

松宮雅典, 島田幹男, 松本義久, DNA 二重鎖切断修復遺伝子欠損細胞 (ヒト細胞) の作製と解析, 日本放射線影響学会第 59 回大会, 10 月, 2016 年

重 1-22

**DNA 損傷修復に対するクロマチン結合因子
BAF の役割**

研究組織

共同研究代表者：原口 徳子

(情報通信研究機構 未来 ICT 研究所:主任研究員)

受入研究代表者：田代 聡

(広島大学原爆放射線医科学研究所:教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、DNA 損傷修復に対するクロマチン結合タンパク質 barrier-to-autointegration factor (BAF) の役割を検討するために、放射線障害を与えた細胞に対して BAF タンパク質の局在を調べた。方法としては、BAF に蛍光タンパク質 GFP を融合した GFP-BAF を発現させた細胞に対して、細胞核 (DNA が存在する) の一部に放射線照射を行い、GFP-BAF の局在が、照射部位に集まるかどうかを検討した。今回の実験では、放射線照射部位に集積しないという結果が得られた。

ゲノム修飾タンパク質 RAD51 の核内ドメイン形成制御に SUMO 修飾システムが関与することが分かっており (田代教授の成果)、一方、BAF は SUMO タンパク質と結合することが分かっている (原口の成果、未発表)、今後は、BAF が SUMO 化修飾を介してゲノム DNA 損傷修復に関与する可能性を検討したい。

発表論文

なし。

重 1-23

A cross-cultural research health maintenance conception among population in compliance with standard evaluation of health condition technique

Research Organization :

Representative Joint Researcher: Tamara Sharshakova (Professor, Ph.D., M.D., chief of the department of public health and public health services: Gomel State Medical University)

Resident Researcher: Jumpei Takahashi (Assistant Professor, Center for International Collaborative Research: Nagasaki University)

Joint Researcher: Barys Paulau (M.A., Sociology, International Project Coordinator, Gomel State Medical University)

Joint Researcher: Alisa Barash (M.D., assistant and postgraduate student of the department of public health and public health services, Gomel State Medical University)

Representative Resident Researcher: Naomi Hayashida (Professor, Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University)

Contents, Results, and Prospects of Study

1. determination of tools for research
2. planning of selection of research
3. coordination of the ethical aspects connected with carrying out sociological research
4. coordination with public health organizations for performing research
5. carry-out focus-group for performing research
6. realization pilot study in Belarus
7. specialist selection for performing research

In the future,...

1. formation of the database with both results of research
2. interpretation and comparison of results of research
2. preparing of the final report for research
5. Presented papers

Presented result (report, article) about pilot study in Belarus in annual university conference in Gomel State Medical University, April, 2017.

重 1-24

ゲノム損傷修復の分子機構に関する研究

研究組織

共同研究代表者：石田 万里

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科心
臓血管生理医学：講師)

共同研究者：石田 隆史

(福島県立医科大学循環器内科学：教授)

坂井 千恵美

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科心
臓血管生理医学：研究員)

受入研究代表者：田代 聡

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、被爆者の追跡調査（被爆線量と動脈硬化性心疾患の罹患率に相関あり）と早老症の病態をヒントに、ゲノム損傷および修復異常と動脈硬化等の心血管疾患との関連を明らかにすべく実施している。

ゲノム損傷に対する修復機能に異常をもつ遺伝子改変マウス（Ku80 ノックアウトマウス）と動脈硬化発症マウスを交配させた遺伝子二重改変マウスを用いた実験より、修復異常があると動脈硬化が増悪することを示した。研究結果より、ゲノム損傷の蓄積により血管の構成細胞の表現型に変化が生じ炎症が惹起されることが機序であると示唆された。

また、この現象を基盤に動脈硬化のバイオマーカーを確立する目的でヒト単核球を用いたゲノム損傷評価法を確立した。本方法を用いて、動脈硬化の危険因子のひとつである喫煙のリスクをゲノム損傷修復の面から検証し、本評価法が喫煙のリスクを敏感に関知できることを証明した。さらに動脈硬化の診断、動脈硬化リスクの総合評価における有用性を検討中である。また本評価法を用いて放射線誘発性動脈硬化症の進展予測を行えるか否かも検討中である。

発表論文

Ishida M, Ishida T, Tashiro S, Uchida H, Sakai C, Hironobe N, Miura K, Hashimoto Y, Arihiro K, Chayama K, Kihara Y, Yoshizumi M. Smoking Cessation Reverses DNA Double-strand Breaks in Human Mononuclear Cells. PLoS One. 9(8): e103993, 2014

重 1-25

転写依存的ゲノム損傷修復の解析

研究組織

共同研究代表者：倉岡 功

(大阪大学大学院基礎工学研究科：准教授)

受入研究代表者：田代 聡

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線は生物に損傷 DNA を与える。この損傷は DNA ポリメラーゼによる複製に影響を与え、最終的に細胞に突然変異の誘発および細胞死を導く。従来これらの影響は複製を基に研究されてきた。しかしながら、放射線により生じる損傷、例えば DNA 鎖切断などは、DNA ポリメラーゼのみならず、RNA ポリメラーゼをも阻害することが容易に想像される。本研究は、電離放射線により生じる DNA 鎖切断が転写伸長機構にその停止および転写産物の異常を与えるかを解析することを目的とした。

本研究は、ゲノム編集技術を用いて HeLa 細胞におけるゲノム中の転写領域と非転写領域での鎖切断損傷導入に成功し、突然変異解析を行った。その結果、転写領域が非転写領域よりも変異の導入が少ないように観察された。しかしながら、ゲノムの損傷頻度および細胞集団のトランスフェクション頻度の解析などが必要である。また、解析としては無細胞系の実験方法が必要であることも明らかになった。

そこで今後は再び、転写依存的 DNA 鎖切断修復の解析を行うための無細胞系転写修復系を開発する予定である。

発表論文

- 1 : Tawarahara H, Kuraoka I, Iwai S. Facile preparation of a fluorescent probe to detect the cellular ability of nucleotide excision repair. Anal Biochem. 2017 Jun 1;526:71-74. doi: 10.1016/j.ab.2017.03.023.
- 2 : Kim JI, Tohashi K, Iwai S, Kuraoka I. Inosine-specific ribonuclease activity of natural variants of human endonuclease V. FEBS Lett. 2016 Dec;590(23):4354-4360. doi: 10.1002/1873-3468.12470.
- 3 : Yamamoto J, Takahata C, Kuraoka I, Hirota K, Iwai S. Chemical Incorporation of Chain-Terminating Nucleoside Analogs as 3'-Blocking DNA Damage and Their Removal by Human ERCC1-XPF Endonuclease. Molecules. 2016 Jun 11;21(6). pii:E766. doi: 10.3390/

molecules21060766.

重 1-26

DNA 修復機構の破綻による疾患発症機構の
解明

研究組織

共同研究代表者：岡 泰由

(名古屋大学環境医学研究所：特任助教)

共同研究者：荻 朋男

(名古屋大学環境医学研究所：教授)

受入研究代表者：中沢 由華

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

細胞内では多くのタンパク質が秩序立ち、かつ協調して働くことにより、ゲノム DNA の安定性が維持されている。DNA 修復タンパク質をコードする遺伝子の異常は様々な疾患（がん、免疫不全、成長障害、形成異常）で見ついていることから、『DNA 修復機構』の理解はこれら疾患の病因解明に繋がることが期待される。DNA 修復機構の破綻によって引き起こされる遺伝性疾患の中で、依然として遺伝子変異の同定に至っていないケースが多数存在する。そこで、本申請研究では遺伝性疾患患者由来の細胞を用いて新規の疾患発症に関連する遺伝子変異を同定することを目的とする。

本申請研究では、DNA 修復機構の破綻が原因で小頭症を発症したことが疑われる患者由来の細胞に DNA 損傷誘導剤を処理し、DNA 修復・DNA 損傷応答蛋白質の局在変化ならびに発現誘導を検討した。その結果、DNA 損傷応答シグナル伝達経路に異常を示す細胞を見出した。

今後は、この細胞の詳細な解析ならびにゲノム解析を実施し、疾患発症に関わる候補因子の絞り込みを行うことで、小頭症の病因解明を行う。

発表論文

該当なし

重 1-27

生殖細胞の DNA 損傷の新規評価方法の開発

研究組織

共同研究代表者：挾間 章博

(福島県立医科大学医学部：教授)

共同研究者：兼子 智

(東京歯科大学市川総合病院：講師)

三宅 将生

(福島県立医科大学医学部：助教)

小林 大輔

(福島県立医科大学医学部：助教)

吉江 進

(福島県立医科大学医学部：助教)

受入研究代表者：大津留 晶

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は単一生殖細胞の DNA 損傷を可視化・定量化を目的とし、単一細胞「糸紡ぎ」DNA 電気泳動法、あるいはミトコンドリア DNA-PCR 法により、生殖細胞に対する放射線等による DNA 損傷の評価方法を確立した。

放射線等による人体への影響を評価する方法の一つとして、細胞障害の程度を様々な観点から測定する技術が必要である。その指標のひとつとして、断片化 DNA の検出が用いられているが、コメットアッセイ法や TUNEL 法では感度が低く、障害の初期段階をとらえることが難しい。一方、従来のパルスフィールド電気泳動法は、主に細胞集団を解析対象としているため、単一細胞あるいは分化誘導させた iPS 細胞のような、不均一な可能性のある細胞集団の解析には適当でない場合がある。

我々はパルスフィールド電気泳動を独自に改良し、アガロース薄膜中において、単一細胞から直接「糸紡ぎ」のように DNA の糸を伸ばし観察を行う手法を確立した。既に精子を用いて、単一細胞の障害状況の可視化に成功している (Kaneko et al., 2012 PLoS One)。さらにこの手法を iPS 細胞に応用すべく、さらなる改良と実験条件の最適化を施したうえで、過酸化水素による DNA 障害の可視化を試み、コメットアッセイやトリパンブルー染色との比較を行った。その結果、本法を用いることでトリパンブルー染色やコメットアッセイでは、差を見出すことができないような実験条件より鋭敏に DNA 障害を検出できることが明らかとなり、細胞の品質管理に有用であると示唆された。

また、卵細胞において、外部から放射線等の影響を受けると卵細胞内ミトコンドリア DNA が傷害を受けると予想される。ミトコンドリア DNA の部分的な損傷は卵細胞の生殖細胞としての品質を低下させると考えられるため、卵細胞ミトコンドリア DNA 損傷の程度を評価する技術は重要であると考ええる。卵細胞ミトコンドリア DNA を PCR で増幅し、その増幅量が外部からの影響によって変化するかどうか確認した。過酸化水素処理及び UV-B 照射された卵細胞ではミトコンドリア DNA はコントロールと比して増幅量が減少しており、外部からの障害を受けた卵細胞の評価方法を確立した。

今後は、障害の種類、強度などと本検出系で可能な検出感度について更に検討を重ねる。

発表論文

学会発表

竹口優三, 三宅将生, 吉江進, 兼子智, 挾間章博 (2017)
第 16 回日本再生医療学会 (仙台)

重 1-28

紫外線誘発 DNA 損傷の修復に関わるクロマチン構造制御

研究組織

共同研究代表者：菅澤 薫

(神戸大学バイオシグナル総合研究センター:教授)

共同研究者：酒井 恒

(神戸大学バイオシグナル総合研究センター:助教)

各務 恵理菜

(神戸大学理学研究科:大学院生)

受入研究代表者：田代 聡

(広島大学原爆放射線医科学研究所:教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

哺乳類のスクレオチド除去修復 (NER) の開始段階で働く XPC や DDB2 などの DNA 損傷認識因子とクロマチン構造関連因子の相互作用の解析を通して、効率的な DNA 修復を保障するクロマチン構造制御の分子基盤を理解することを目的として研究を進めた。今回、XPC がヒストン H3 及び H1 と直接相互作用すること、ヒストン H3 のアセチル化が XPC との相互作用を負に制御することを新たに見出した。また、細胞核の局所に紫外線を照射して DNA 損傷を誘起することにより、その領域でヒストンのアセチル化レベルが周囲に比べて低下することを示した。これまでの結果と考え合わせると、DNA 損傷部位近傍でヒストンの脱アセチル化を含むエピジェネティックな構造変化 (ヘテロクロマチン様構造) が誘起されることで、XPC のリクルートが促進されている可能性が考えられる。

今後は、局所紫外線照射後の細胞核内における XPC とさまざまなヒストン修飾の局在を超解像顕微鏡などによって詳細に比較解析することで、DNA 修復の開始において重要なクロマチン構造の性質を調べる予定である。

発表論文

Kakumu, E., Nakanishi, S., Shiratori, H.M., Kato, A., Kobayashi, W., Machida, S., Yasuda, T., Adachi, N., Saito, N., Ikura, T., Kurumizaka, H., Kimura, H., Yokoi, M., Sakai, W., and Sugawara, K. Xeroderma pigmentosum group C protein interacts with histones: regulation by acetylated states of histone H3. *Genes Cells* 22: 310-327 (2017).

重 1-29

The effect of radiation exposure on the Bmi-1 highly expressed cardiac stem cells and their function

研究組織

共同研究代表者：Yucai Xie

(Professor, Shanghai Ruijin Hospital)

共同研究者：Tong Yin

(Associate Professor, Shanghai Ruijin Hospital)

受入研究代表者：Tao-Sheng Li

(Professor, Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University)

研究内容・研究成果・今後の展望等

Bmi-1 gene is a component of the polycomb repressive complex 1, which has been recently demonstrated the role in the self-renewal of some tissue-specific stem cells. By using Bmi-1GFP/+ mice, we investigated the potential role of Bmi-1 on cardiac stem cells and myocardial repair after myocardial infarction. RT-PCR and flow cytometry analysis indicated that the expression of Bmi-1 was significantly higher in cardiac side population than main population from CD45⁻Ter119⁻CD31⁻ heart cells. More Sca-1⁺ cardiac stem cells were found in Bmi-1 GFP^{hi} subpopulation, and these Bmi-1 GFP^{hi} heart cells showed the potential of differentiation into SMM⁺ smooth muscle-like cells and TnT⁺ cardiomyocyte-like cells in vitro. Otherwise, myocardial infarction induced a significantly increase of Bmi-1 GFP^{hi} population at one week after infarction. These preliminary data suggested that Bmi-1^{hi} heart cells are enriched in cardiac stem cells and probably play a role for myocardial repair.

In the future, we plan to investigate whether and how irradiation exposure decrease the numbers of Bmi-1 highly expressed heart cells and damage the cardiac function after myocardial infarction.

発表論文

Although we have no papers published yet, the manuscript are preparing.

重 1-30

PCNA のポリユビキチン化の細胞生物学的解析

研究組織

共同研究代表者：増田 雄司

(名古屋大学環境医学研究所：准教授)

受入研究代表者：河合 秀彦

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

DNA は放射線をはじめとする外因性、内因性の物理化学的要因により恒常的に障害を受けており、DNA 複製時に DNA ポリメラーゼ (Pol ϵ または Pol δ) が損傷塩基に遭遇することは避けられない。この際、Pol ϵ または Pol δ は損傷部位で停止し、新生鎖にギャップ領域が生じる。複製後修復機構 post-replication repair (PRR) は、このギャップ領域を修復し、鋳型 DNA の損傷を除去することなく DNA 複製を完了する分子機構である。PRR は PCNA のモノ/ポリユビキチン化により制御される。PCNA のモノユビキチン化は損傷乗り越え DNA ポリメラーゼ (Pol η , Pol ι , Pol κ , REV1) を介した損傷乗り越え DNA 合成を促進し、ポリユビキチン化は新生娘鎖を鋳型として DNA 合成を行う Template switch (TS) を促進すると考えられている。申請者はこれまでに、精製したタンパク質因子によって PRR の各反応を再構成し、まず PCNA のモノユビキチン化の分子機構を明らかにした。さらに、PCNA のモノユビキチン化が損傷部位での Pol δ と Pol η のポリメラーゼ交換反応を促進することを証明した。また、PCNA のポリユビキチン化に関してもその分子機構を明らかにしているが、細胞生物学的知見は限定的である。本共同研究は、ポリユビキチン化の分子機構の生物学的意義を明らかにすることを目的とした。

PCNA のユビキチン化は、ユビキチン連結酵素 RAD6 と UBC13、ユビキチンリガーゼ RAD18 と HLTF による複合反応である。本共同研究では前年度に引き続き、PCNA のポリユビキチン化に機能すると考えられている HLTF に着目し、HLTF 遺伝子の変異体を培養細胞で発現させる方法を用いた遺伝子機能の解析法を検討した。

発表論文

なし

重 1-31

細胞核構造と DNA 修復マシナリーの機能的相互作用解析

研究組織

共同研究代表者：原田 昌彦

(東北大学大学院農学研究科：准教授)

共同研究者：尾間 由佳子

(東北大学大学院農学研究科：ポスドク)

山崎 祥他

(東北大学大学院農学研究科：ポスドク)

日下部 将之

(東北大学大学院農学研究科：ポスドク)

受入研究代表者：田代 聡

(広島大学原爆放射線医学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

これまでの研究から、核内空間配置が DNA 損傷修復に密接に関与していることが見出されている。例えば、出芽酵母核内で、修復困難な DNA 二重鎖切断部位は、核膜近傍に移行することが観察されている。しかし、細胞核構造とクロマチンの相互作用がどのように DNA 修復に関与しているかについては不明な点が多い。本研究は、細胞核に存在するアクチンファミリーと、ヒストンバリエント H2A. Z に注目して解析を行った。アクチンファミリーのいくつかの分子種は細胞核に局在しており、これらのアクチンファミリーが DNA 修復に関与することが示されている。また、ヒストンバリエント H2A. Z は、クロマチン構造形成と、クロマチンの核内空間配置に関与することが示されている。そこで、これらのアクチンファミリーあるいは H2A. Z 遺伝子に蛍光タンパク質を融合させて培養細胞において発現し、細胞内のタンパク質の局在やダイナミクスを蛍光顕微鏡で観察した。その結果、修復因子とこれらのタンパク質の核内局在に関連性が観察された。今後は超解像度顕微鏡での観察を行い、これらのタンパク質の詳細な局在や、DNA ダメージに伴う変化などの解析を行う。このメカニズムの理解は、ゲノム不安定化によるがんのリスクを低下させることに役立つほか、がんの放射線治療を効率的に行うためにも応用可能であると考えられる。

発表論文

なし

重 1-32

低酸素環境下におけるゲノム損傷応答とがん治療法開発

研究組織

共同研究代表者：江口 英孝

(埼玉医科大学ゲノム医学研究センター：准教授)

共同研究者：深澤 賢宏

(自然科学研究支援開発センター 生命科学

実験部門 生命科学機器分析部：研究員)

受入研究代表者：谷本 圭司

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、低酸素環境下におけるゲノム損傷応答の分子機構を解明し、がんのゲノム情報を基にした放射線増感法や分子標的治療法を開発することを目的として開始されました。

低酸素環境下における遺伝子発現制御において、最も重要な転写因子の一つ *EPAS1* (*HIF2A*) 遺伝子多型に注目し、データベース解析や分子生物学的解析から、*EPAS1* (*HIF-2α*) 発現調節に関わる遺伝子多型を見出しました。さらに、同多型が肺がん患者の予後と強く関連することを見出しました。また、さらなる大規模検体解析、スクリーニングや診断応用に備え、real-time PCR を用いた遺伝子多型同定法の開発を試みて、細胞株の遺伝子多型同定に成功しました。また、同遺伝子多型 G アリルは CpG サイトを形成し DNA メチル化制御を受ける可能性が考えられたため検討し、5azaC による DNA メチル化阻害による *EPAS1* 遺伝子、蛋白の増加を確認し、同部位のシチジンがメチル化されている可能性を HELP 実験にて検証しました。

現在、同遺伝子多型部位の一塩基の相違により、*EPAS1* 発現・機能に差異が生じ、放射線や抗がん剤治療の感受性とも関係する可能性など、さらなる詳細な検討が進行中であります。

発表論文

投稿準備中

重 1-33

ab initio 法によるゲノム損傷修復遺伝子の網羅的同定と機能解析

研究組織

共同研究代表者：森 努

(福島県立医科大学看護学部：准教授)

共同研究者：池田 和彦

福島県立医科大学医学部：准教授)

三浦 浅子

(福島県立医科大学看護学部：講師)

河村 隆

(福島県立医科大学看護学部：博士研究員)

受入研究代表者：大津留 晶

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

私たちが開発した *ab initio* 法（非経験的遺伝子機能解析法）は informatics に基づく手法で、実験無しに目的遺伝子の機能を予測できる。この技術は特許申請中（特願 2017- 72904）であるため結果の詳細は公開できないが、放射線感受性遺伝子群の持つネットワーク特性が浮かび上がってきた。今後は、このたび得られた特性に基づいた検索を進めることにより、ゲノム損傷修復に関わる遺伝子の網羅的同定に繋げたい。

発表論文

Koki Ueda, et al. HMGA2 collaborates with JAK2V617F in the development of myeloproliferative neoplasms. Blood Advances, 2017, in press

重 1-34

NBS1 タンパク質による DNA 損傷応答制御機構に関する研究

研究組織

代 表 者：田内 広

(茨城大学理学部：教授)

共同研究者：坂本 裕貴

(茨城大学大学院理工学研究科：院生 D 3)

受入研究者：松浦 伸也

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究では、ナイミーヘン症候群 (NBS) の原因タンパク NBS1 が制御する DNA 損傷応答経路と、NBS1 タンパクの機能ドメインに着目し、NBS1 と DNA 損傷修復との関係を詳細に解析することを目的としている。NBS1 は、RAD50 および MRE11 と複合体 (MRN 複合体) を形成し、放射線照射による DNA 二重鎖切断 (DSB) 形成に伴う複合体の局在および修復活性の制御を行うのみならず、DNA 損傷を受けた細胞のアポトーシスや細胞周期チェックポイントなど多様な応答経路を制御しており、これらの制御は損傷の程度によって変化する可能性があることが示唆されている。損傷量と NBS1 機能との関係を明らかにできれば、細胞が持つ放射線損傷応答の仕組みが明らかになるだけでなく、がん放射線治療効果の改善へも展開が期待できると考えている。昨年度に引き続き、今年度も NBS1 機能が体細胞突然変異の誘発にどう関わるのかについて、部位特異的 DSB 導入系を用いて解析を行った。その結果、MRE11/RAD50/NBS1 複合体による DSB 末端プロセシングが突然変異の誘発頻度に深く関わっていることが確認された。また、得られた突然変異体のスペクトル解析から、NBS1 を中心とする複合体が DSB 修復経路の選択に深く関わっていることを裏付けるデータも得られた。今後は、NBS1 が持つ機能ドメインと突然変異誘発との関係を解明することに着目して進める予定である。

発表論文

なし

重 1-35

DNA 損傷応答シグナルの活性化における TIP60 ヒストンアセチル化酵素複合体の役割

研究組織

共同研究代表者：井倉 毅

(京都大学放射線生物研究センター：准教授)

共同研究者：井倉 正枝

(京都大学放射線生物研究センター：博士研究員)

受入研究代表者：田代 聡

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、TIP60 ヒストンアセチル化酵素に着目し、放射線による DNA 損傷部位のクロマチン構造変換の分子機構とその意義を探ることが目的である。我々は、TIP60 ヒストンアセチル化酵素複合体による H2AX のアセチル化が、ポリ ADP-リボシル化酵素 PARP-1 の活性を制御することを明らかにした。PARP-1 の酵素活性を細胞内で阻害するとヒストン H2AX の交換反応が阻害されることから、H2AX のアセチル化による PARP-1 の酵素活性調節が、損傷部位での H2AX の交換反応に重要であることが示された。今後は、TIP60 による H2AX のアセチル化が、如何なるメカニズムで PARP-1 の酵素活性を調節し、H2AX の交換反応を促すのかについて検討を加えて行きたい。

発表論文

Ikura M, Furuya K, Fukuto A, Matsuda R, Adachi J, Matsuda T, Kakizuka A, Ikura T. Coordinated Regulation of TIP60 and Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1 in Damaged-Chromatin Dynamics. *Mol Cell Biol*. 査読有 2016, 36, 1595-1607. DOI: 10.1128/MCB.01085-15.

重 1-36

放射線による DNA 二本鎖切断修復後の染色体安定性維持機構の解明

研究組織

共同研究代表者：宇井 彩子

(東京工科大学応用生物学部：准教授)

共同研究者：岡田 麻衣子

(東京工科大学応用生物学部：研究員)

受入研究代表者：山内 基弘

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

DNA 二重鎖切断 (DNA double strand break; DSB) の修復機構は染色体安定性の維持に重要であるが、その分子機構は不明な点が多い。申請者は、ATM キナーゼの制御のもと転写活性化因子の ENL と転写抑制因子のポリコームが協調して機能することにより、DSB 修復と転写を共役させゲノム安定性を維持していることを見出したが、そのメカニズムの詳細は明らかではない。そこで、ENL・SEC 複合体の因子・ポリコーム群の因子や DSB 因子の転写部位と DSB 部位における結合の詳細を明らかにし、その分子機構を明らかにする。

上記の因子群の、転写部位と DSB 部位にどのような因子が結合するのかを明らかにする目的で、ChIP アッセイを用いた解析系を構築した。その結果、転写活性化の状態においては ENL とポリコームの転写部位への結合領域は異なるが、DSB 発生時には、その結合領域に共通の領域が存在することが明らかになった。現在、引き続き、結合領域の詳細を解析中である。さらに、放射線などにより DSB が生じた際の、これら転写因子の結合の変化を観察中である。本研究から、転写と DSB 修復の共役のメカニズムが明らかになるとともに、この共役機構が染色体不安定性に及ぼす影響を明らかにしたい。

発表論文

特になし。

重 1-37

放射線による DNA 二本鎖切断修復におけるプロテアソーム因子 UBE3C の機能の解析

研究組織

共同研究代表者：岡田 麻衣子

(東京工科大学応用生物学部：研究員)

受入研究代表者：山内 基弘

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線による DNA 二重鎖切断 (Double strand break: DSB) は細胞にとって致命的なだけでなく、DSB 修復異常は細胞がん化を引き起こす。近年、ユビキチン E3 リガーゼが、DSB 修復機構に重要な役割を果たすことが明らかになってきている。

本研究ではプロテアソーム結合型ユビキチンリガーゼ UBE3C の DNA 二本鎖切断修復における機能解析を行った。UBE3C は放射線照射後、速やかに DSB 部位に集積することを見出しているが、その意義は不明であった。本研究成果により、UBE3C の機能不全細胞では、DSB 依存的に細胞内のプロテアソーム機能が亢進し、修復因子群の不適切な分解とそれに伴う修復不全が生じる可能性が示唆された。一方で、これらの分解亢進は特定のタンパク群に対して観察されることから、UBE3C による DSB 依存的なプロテアソーム制御は時空間的な制御によりある程度の特異性を有する機構であることが推察された。

今後は、これらの特異性の規定要因として、UBE3C およびプロテアソーム構成因子群の DSB 依存的な翻訳後修飾および相互作用因子群の同定を行う予定である。また、DSB 修復不全により惹起される染色体不安定性との関連を明らかにしていきたいと考えている。

発表論文

特になし

重 1-38

ビタミン B6 摂取における大腸癌予防効果
の遺伝子解析

研究組織

共同研究代表者：矢中 規之

(広島大学大学院生物圏科学研究科：准教授)

受入研究代表者：金井 昭教

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

ビタミン B6 (B6) は主にアミノ酸代謝や遺伝子発現の調節などを担うことが良く知られるが、azoxymethane 投与によるラット大腸腫瘍モデルに対して食餌性 B6 の摂取量の増加に伴って前癌病変や癌の発生率が抑制されることが見出され、その作用機序として大腸における抗炎症作用が注目されている。また、LPS 刺激したマクロファージ細胞の炎症反応に対して B6 の投与が抑制効果を示すことを明らかにしている。そこで、B6 の *in vivo* における抗炎症効果に注目し、高脂肪食により誘導した肥満白色脂肪組織の炎症誘導に与える影響を検討した。高脂肪食を摂取したマウスの精巣周囲白色脂肪組織の total RNA を用いて cDNA を作製し、DNA microarray 法を用いて網羅的な遺伝子発現解析を行った結果、食餌性 B6 の摂取量の増加に従って、単球・マクロファージのマーカー遺伝子や TNF α 、Saa3、PTX3 などの炎症性因子群の遺伝子発現が抑制されていた。特に、transwell システムを用いた脂肪細胞、およびマクロファージ細胞の共存培養において Saa3 や PTX3 遺伝子の発現解析を行なった結果、活性化マクロファージ細胞の存在下において脂肪細胞における Saa3 や PTX3 の遺伝子発現は著しく誘導した。また、活性化マクロファージ細胞由来の培養上清の添加によって脂肪細胞での Saa3 遺伝子の発現が誘導した。以前の解析によって、単球・マクロファージマーカーである F4/80 抗体を用いた免疫染色によって、B6 摂取によって白色脂肪組織への単球・マウスマクロファージの浸潤量の抑制が認められたことから。本研究結果は、B6 量を摂取した際の肥満白色脂肪組織の慢性炎症の抑制効果メカニズムとして、B6 摂取量の増加は白色脂肪組織へのマクロファージの浸潤を抑制し、脂肪細胞とマクロファージ細胞の相互作用を遮断することで脂肪組織の炎症反応を抑制したと考えられた。

発表論文

1. Y. Sanada, T. Yamamoto, R. Satake, A. Yamashita,

S. Kanai, N. Kato, F. A. van de Loo, F. Nishimura, P. E. Scherer, N. Yanaka: Serum amyloid A3 gene expression in adipocytes is an indicator of the interaction with macrophages. *Sci. Rep.*, 6, 38697 (2016).

2. T. Hashimoto, B. Yang, Y. Okazaki, I. Yoshizawa, K. Kajihara, N. Kato, M. Wada, N. Yanaka: Time course analysis of skeletal muscle pathology of GDE5 transgenic mouse. *PLoS One*, 11, e0163299 (2016).
3. T. Kaji, A. Hijikata, A. IshigeA, T. Kitami, T. Watanabe, O. Ohara, N. Yanaka, M. Okada, M. Shimoda, M. Taniguchi, T. Takemori: CD4 memory T cells develop and acquire functional competence by sequential cognate interactions and stepwise gene regulation. *Int. Immunol.*, 28, 267-282 (2016).
4. Y. Nakagawa, T. Sakuma, N. Nishimichi, Y. Yokosaki, N. Yanaka, T. Takeo, N. Nakagata, T. Yamamoto: Ultra-superovulation for the CRISPR-Cas9-mediated production of gene-knockout, single-amino-acid-substituted, and floxed mice. *Biol. Open.*, 5, 1142-1148 (2016).
5. T. Kawai, N. Yanaka, J. S. Richards, M. Shimada: De novo-synthesized retinoic acid in ovarian antral follicles enhances FSH-mediated ovarian follicular cell differentiation and female fertility. *Endocrinology*, 157, 2160-2172 (2016)

重 1-39

ゲノム構造変換を伴う細胞分化過程における DNA 損傷の有無の検証

研究組織

共同研究代表者：落合 博

(広島大学理学研究科：特任講師)

受入研究代表者：松浦 伸也

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

受入研究者：宮本 達雄

(広島大学原爆放射線医科学研究所：講師)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究では、細胞分化過程で生じる細胞核の急激な変形によって DNA 損傷が誘引されるか否かを検証するために、以下の実験を実施した。我々は、マウス *LamA/LBR* ダブルノックアウト ES 細胞では、神経細胞への分化過程において細胞核の変形がヘテロクロマチンの劇的な配置転換に関与していることを見出している。そこで、本 ES 細胞株に、DSB マーカーである GFP-53BP1 を発現させた細胞株を樹立した。

今後、本細胞株を神経細胞へと分化誘導し、その過程で DSB が細胞核変形に伴って導入されるか否かを調べる。

発表論文

特になし。

重 1-40

口腔扁平上皮癌の放射線耐性に関与するエピゲノム異常の解析

研究組織

共同研究代表者：中山 秀樹

(熊本大学 歯科口腔外科学分野：教授)

共同研究者：廣末 晃之

(熊本大学 歯科口腔外科学分野：助教)

中元 雅史

(熊本大学 歯科口腔外科学分野：医員)

松井 啓隆

(熊本大学 臨床病態解析学：教授)

受入研究代表者：金井 昭教

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

口腔癌の 90% 以上を占める口腔扁平上皮癌 (OSCC) の予後は、近年の分子標的薬の導入や診断法の向上にも関わらず、十分な改善には至っていない。それには高悪性度を有し、抗癌剤や放射線治療に耐性を示す治療抵抗性の癌の存在が大きな要因となっている。そのため、予後の改善には癌の個性を捉える新たな診断法と治療戦略の開発が求められる。癌細胞の個性を決定する分子機構としてエピジェネティクスの機構が重要であり、当科では口腔扁平上皮癌の放射線耐性機構に関与するエピゲノム異常に着目し、治療反応性の予測や個別化治療への応用を目指している。

放射線耐性の口腔扁平上皮癌細胞株およびその親株より DNA を抽出し、RRBS (Reduced representation of bisulfite sequence) 法による網羅的 DNA メチル化解析を次世代シーケンサーにて施行した。

結果として、放射線耐性株は親株と比較し、ゲノムワイドで DNA メチル化状態が大きく変化していた。術前に化学放射線治療を施行した患者の生検組織から抽出した DNA を用いて MSP 法にて複数の遺伝子の DNA メチル化状態と治療効果との関連性も比較したところ、

放射線耐性株で RRBS 法による解析で高メチル化状態を示していた複数の遺伝子においては臨床検体でも治療効果が不良な症例にて同遺伝子の高メチル化状態が確認された。

今後は他の放射線耐性株における網羅的 DNA メチル化解析を実施し、さらに臨床検体での DNA メチル化状態と治療効果との関連性を解析することで、放射線耐性に関与するエピゲノムプロファイリングを行い、治療反応性の予

測や個別化治療への応用を目指していきたい。また、エピゲノム変化による放射線耐性機構の分子メカニズムについても解明していきたいと考えている。

発表論文

なし

重 1-41

がん細胞にみられるヒストン変異の相同組換え修復への影響解析

研究組織

共同研究代表者：胡桃坂 仁志

(早稲田大学 理工学術院：教授)

共同研究者：有村 泰宏

(早稲田大学 理工学術院：助教)

町田 晋一

(早稲田大学 理工学術院：助教)

小林 航

(早稲田大学 理工学術院：助教)

受入研究代表者：田代 聡

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本共同研究は、ヒストンの突然変異による細胞がん化機構の解明を目的として行った。真核生物のゲノム DNA 上には、ヒストンタンパク質 8 量体の周りに DNA が巻き付いた、ヌクレオソームが形成されている。共同研究者の胡桃坂らは、がん細胞に高頻度でみられるヒストンの点変異は、in vitro において、二重鎖切断損傷修復の過程で起こる相同対合反応を促進する事を明らかにしていた。そこで、8月29日から9月3日まで、共同研究者の有村泰宏が、広島大学田代研究室に滞在し、ヒストン点変異と細胞内における相同組換えの関係について細胞生物学的手法を用いて解析した。具体例には、ヒト骨肉腫由来培養細胞 (U2OS) に変異ヒストンを安定発現させ、Homologues Recombination (HR) アッセイ、姉妹染色分体交換アッセイ、放射線感受性アッセイ、Premature Chromatid Separation (PCS) アッセイなどを行った。本共同研究によって、細胞内で、ヒストンの変異が相同組換えに与える影響が明らかになった。今後、これらの本共同研究の成果について論文作成を進める。

発表論文

論文作成中

重 2-1

トランスジェニックマウスを用いた減数分裂に関する遺伝子 SCP3 の機能解析

研究組織

共同研究代表者：宮川 清

(東京大学大学院医学系研究科：教授)

共同研究者：細谷 紀子

(東京大学大学院医学系研究科：講師)

受入研究代表者：本田 浩章

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

SYCP3 (SCP3) は、生殖細胞において減数分裂が行われる際に形成されるシナプトネマ複合体を構成するタンパク質であり、減数分裂相同組換えに重要な役割を果たすことが知られている。一方、体細胞では、正常組織には発現せず、一部のがんにおいて発現が認められることから、がん精巣抗原の一つと考えられ、がん治療の標的分子の候補とも考えられている。

がん細胞における SYCP3 の機能解析は、培養細胞を用いて行われてきた。その解析の結果、体細胞の相同組換えにおいて中心的な役割を果たす Rad51 の機能を媒介する BRCA2 に SYCP3 が結合することによって、相同組換えによる DNA 二重鎖切断修復の機能が低下することが判明している。BRCA2 の変異は、遺伝性乳癌・卵巣癌において報告されていることから、BRCA2 を介する相同組換えの機能が低下することは、これらの種類の癌をはじめとして、ヒトの発がんの原因となることが想定されている。

このような知見に基づいて、SYCP3 を体細胞に強制的に発現させたトランスジェニックマウスを作製して、その発がんへの影響を検討してきたが、明らかながん発症の増加は認められていない。その理由としては、相同組換え機能の低下のみでは、有意な発がん頻度の増加には至らない可能性がある。また、マウスの組織では培養細胞で観察されたような相同組換えの低下が生じない可能性も想定される。そこで、マウスの各組織における相同組換えの頻度を反映する簡便な測定方法を現在検討している。

発表論文

なし

重 2-2

エピジェネティクス因子による慢性骨髄性白血病の制御機構解析

研究組織

共同研究代表者：正本 庸介

(東京大学医学部附属病院輸血部：助教)

受入研究代表者：本田 浩章

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は BCR-ABL のトランスジェニックマウスと、臨床的に関連が知られているエピジェネティック関連因子 ASXL1 の変異ノックインマウスを交配し、慢性骨髄性白血病の病態形成における ASXL1 の機能を解析した。ASXL1 変異は BCR-ABL による CML の発症過程に影響を与えなかったが、慢性骨髄単球性白血病などの発症を促進したことから、今後はこれらの疾患における病態形成機序を解析していく予定である。

発表論文

なし

重2-3

放射線被ばくマウスの組織・臓器における染色体異常解析

研究組織

共同研究代表者：有吉 健太郎

(弘前大学被ばく医療総合研究所：助教)

受入研究代表者：鈴木 啓司

(長崎大学原爆後障害医療研究所：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線被ばくのゲノムに対する影響の評価法として、染色体異常の解析が広く用いられている。例えば、放射線被ばく線量の評価法として、染色体異常を指標にした技術が確立されていることは周知の事実である。しかしながら、これら染色体解析の対象は、末梢血リンパ球や脾臓細胞などの限られた組織・臓器に限られており、放射線発がんの標的になるような大半の臓器・組織で解析ができるわけではない。そこで本共同研究では、放射線被ばく組織に生成する染色体異常を、組織から採取した増殖性を有する細胞において解析する技術を確認し、放射線被ばくによる発がん過程でのゲノム損傷を解析することを目的とした。

今年度は、マウスより採取した肺および肝臓を細切し、コナゲナーゼ処理と金属メッシュにより細切断し、37℃で酵素反応を施した後、フィルターにより組織片を除去して、細胞培養を行う実験系の確立し、細胞培養を開始した。あわせて、上皮細胞の増殖を促すため、数種類の培地を用いて細胞増殖を検討し、マウス組織幹細胞の増殖を支持する無血清培地の使用も検討した。特に、上皮の細胞と共に、線維芽細胞などの間葉系細胞が混在するため、上皮細胞および線維芽細胞のマーカーを用いて増殖細胞を解析し、染色体作成の対象になる分裂期の細胞で、これら細胞の識別を可能にする技術の開発を試みた。

発表論文

Ariyoshi K, Fujishima Y, Miura T, Kasai K, Nakata A, Yoshida M. Rapid isolation method of murine primary hepatocyte for chromosomal analysis. *In Vitro Cell Dev. Bio.-Animal* (in press)

重2-4

Utx の形質細胞における役割の解析

研究組織

共同研究代表者：三村 尚也

(千葉大学医学部附属病院 輸血・細胞療法部：助教)

共同研究者：岩間 厚志

(千葉大学大学院医学研究院 細胞分子医学：教授)

受入研究代表者：本田 浩章

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

<研究内容>

Utx はヒストン H3K27 メチル化の脱酵素であり、細胞のエピジェネティクスを制御する重要な遺伝子である。本共同研究では広島大学原医研の本田教授が作成した Utx の flox マウスを用いて、形質細胞特異的なコンディショナルノックアウト (KO) マウスを作成し形質細胞における同遺伝子の役割について詳細に検討する。Utx flox マウスを形質細胞特異的に Cre を発現するトランスジェニックマウス (CylCre マウス) と交配することにより、形質細胞特異的な Utx KO マウスを作製する。このマウスを用いて、形質細胞を詳細に観察する。また、本マウスと BRAF V600E 変異のコンディショナルノックインマウスを交配して、同様に表現型を解析する。

<研究成果>

Utx の flox マウスと CylCre マウスを交配する事により、形質細胞特異的なコンディショナル KO マウスを作製した。Cre を効率に発現される目的で、異種免疫を2回施行した。免疫後のマウスの成熟 B 細胞あるいは形質細胞を sorting して遺伝子解析を行い、Utx 遺伝子がノックアウトされている事を確認した。本マウスは1年前後の観察期間で、B 細胞性リンパ腫や形質細胞性腫瘍を発症することが、病理学的解析、FACS 解析、クローナリティ解析にて明らかとなった。更に BRAF 変異マウスとの交配により、この疾患発症が促進される事が分かった。

<今後の展望>

本マウスの B 細胞性腫瘍発症機序を解明するため、H3K27 メチル化異常や BRAF シグナル異常に着目した疾患発症の分子メカニズム解析を行う。また腫瘍細胞をに二次移植して、治療モデルの確立を目指す。

発表論文

なし

重 2-5

メトホルミンによる ATM 活性化分子メカニ
ズムの解明

研究組織

共同研究代表者：濱本 知之

(昭和薬科大学：教授)

共同研究者：浅葉 みず穂

(昭和薬科大学：学生)

受入研究代表者：鈴木 啓司

(長崎大学原爆後障害医療研究所：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線被ばくに対する細胞応答において、DNA 損傷伝達経路の活性化は極めて重要な役割を果たしている。この経路の最上流に位置するのが ATM 蛋白質であるが、DNA 二重鎖切断の生成により、どのようなメカニズムで ATM が活性化するかは、未だに不明なままである。本共同研究では、偶然に発見された、ピグアナイド系糖尿病治療薬メトホルミンによる ATM 活性化の分子メカニズムの解明を介して、ATM 蛋白質の DNA 損傷に対する応答原理を明らかにすることを目的とした。

本年度は、メトホルミンを処理した細胞において、新たに見いだした ATM の特異的阻害剤を用いることにより、ATM の活性化のパターンが、ATM の活性のみに依存するかどうか注力して解析を進めた。また、細胞から抽出した蛋白質において、ウェスタンブロット法により、これら因子の活性化を確認する実験も実施した。

発表論文

重 2-6

ウイルス感染と放射線照射によるゲノム損
傷に関する研究

研究組織

共同研究代表者：吉山 裕規

(島根大学医学部：教授)

共同研究者：飯笹 久

(島根大学医学部：准教授)

金廣 優一

(島根大学医学部：助教)

リカルド ティミイー

(島根大学医学部：大学院生)

キム ヒョジ

(島根大学医学部：大学院生)

ムッター アムリザル

(島根大学医学部：大学院生)

受入研究代表者：松浦 伸也

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、ウイルスがヒト細胞に感染すると、細胞の APOBEC 遺伝子編集酵素が誘導されて、ウイルスゲノムに変異を引き起こし、ウイルス複製を障害する。このヒト細胞のウイルス防御機構は、逆転写を行うウイルスで発見されたが、二本鎖 DNA ウイルスではウイルスの排除はできずに、宿主ゲノムに変異を引き起こしてがん化に至る可能性が指摘されている。即ち、ウイルス発がんも放射線発がんには共通性が示唆される。

我々は EB ウイルス感染が、APOBEC 遺伝子を誘導し、ウイルス自身、宿主細胞、そして宿主ミトコンドリアのゲノムに変異を導入すると考え実験を行い、APOBEC 3C がミトコンドリアゲノムに変異を導入することを見出した。さらに、EB ウイルス感染は細胞あたりのミトコンドリア数を減少させ、ATP 産生の低下と活性酸素の産生増加を導いた。ウイルス発がんも放射線発がんも共通するメカニズムが存在すると考えられた。

今後は、活性酸素の産生ばかりでなく、ミトコンドリア機能異常が腫瘍化を促す分子機構を詳細にする。同時に、EB ウイルス感染が宿主細胞ゲノムへ変異を起こす可能性を、エピゲノム異常や DNA 修復酵素異常も加えて、追求する。

発表論文

- ① Murata T, Noda C, Narita Y, Watanabe T, Yoshida M, Ashio K, Sato Y, Goshima F, Kanda T, Yoshiyama H, Tsurumi T, Kimura H. Induction of Epstein-Barr virus oncoprotein LMP1 by transcription factors AP-2 and early B cell factor. *J Virol* 90(8), 3873-89, 2016.
- ② Nanbo A, Kachi K, Yoshiyama H, Ohba Y. Epstein-Barr virus exploits host endocytic machinery for cell-to-cell viral transmission. *J Gen Virol* 97(11), 2989-3006, 2016.
- ③ Torii Y, Kawada J, Murata T, Yoshiyama H, Kimura H, Ito Y. Epstein-Barr virus infection-induced inflammasome activation in human monocytes. *PLoS ONE*, 12(4): e0175053, 2017.

重2-7

放射線被ばくによるエピジェネティクス攪乱機構解明

研究組織

共同研究代表者：横谷 明德

(量子科学技術研究開発機構：研究主席)

共同研究者：野口 美穂

(量子科学技術研究開発機構：研究員)

藤井 健太郎

(量子科学技術研究開発機構：研究副主幹)

受入研究代表者：鈴木 啓司

(長崎大学原爆後障害医療研究所：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

原爆被爆者の疫学調査研究により、放射線被ばくが発がんの原因になることは明らかである。しかしながら、どのような分子メカニズムで発がんを誘導しているかは未だに明らかではない。近年、放射線被ばくが、ある種のゲノム不安定性を誘導していることが明らかされた。この、放射線誘発ゲノム不安定性 (RIGS) は、細胞分裂を経て子孫細胞に遺伝され、遅延性の発がん形質の誘導に関与しているため、放射線発がんプロセスにおいて重要な役割を果たしていると考えられる。そこで本研究では、この RIGS の発生メカニズムを明らかにするために、放射線被ばくにより生じたゲノム欠失が、エピジェネティクスを攪乱すると仮説を立て、これを立証する共同研究を実施している。

今年度は、放射線照射によるゲノム欠失誘導細胞および親細胞からゲノム DNA を抽出し、RT-PCR 法により欠失部位の同定を行った。大規模欠失部位と予想されるゲノム部位に対する 27 種類の STS マーカー及び新たに 13 種類のプライマーを作成し、標的部位において増幅がかかるか否かを調べた。その結果、これまで大規模欠失部位と考えられていた領域が全て失われているのではなく、部分的に元のゲノム配列が残ったような、複雑な欠失パターンになっていることが明らかになった。これは放射線のトラックが DNA を切断する際にクロマチンの高次構造を反映し、ヌクレオソームなどの単位で切断と修復による再結合が行われたことを示唆していると考えられる。本結果は、現在論文として投稿準備をしている。さらに、モンテカルロシミュレーションによるクロマチン構造を取り込んだ欠失生成のモデルの構築を目指した検討を開始した。

一方、このゲノム欠失領域におけるエピジェネティック変異の検出を実施するための、ChIP アッセイの準備を

進めた。上記の細胞から ChIP キットにより架橋クロマチンを調製し、超音波発生装置あるいは酵素処理によりクロマチン DNA を断片化、エピジェネティック修飾に対する ChIP 抗体を反応させ、磁気ビーズに固相化した ProteinA/G によりクロマチンを回収、TaqMan プローブを用いた multiplex qPCR 法によりエピジェネティック修飾の解析をおこなう解析条件の検討を進めた。

発表論文

重 2-8

造血幹細胞におけるヒストン脱メチル化酵素 Fbx110 の機能解析

研究組織

共同研究代表者：小林 央

(国立国際医療研究センター研究所：上級研究員)

共同研究者：田久保 圭誉

(国立国際医療研究センター研究所：部長)

受入研究代表者：本田 浩章

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

研究内容

造血細胞においては、様々な遺伝子が協調して機能することにより、造血幹細胞の複製と分化の過程を司っているが、各々の遺伝子の生物学的機能については不明の点が多い。受け入れ研究者らは、ヒストン脱メチル化酵素である Fbx110 を造血幹細胞で高発現するトランスジェニックマウスを作製し、このマウスが生後約 1 年で白血病を発症することを見いだした。この共同研究では、Fbx110 トランスジェニックのみならず新たに作製した Fbx110 ノックアウトマウスを用いて、Fbx110 が造血幹細胞においてどのような分子機構によりその活性を制御しているか、またその脱制御がどのような分子機構により造血器腫瘍発症に関与するかについて解析を行う。

研究成果

正常コントロールマウス、および Fbx110 ノックアウトマウスから造血幹細胞を単離し、競合的骨髄移植を行なった結果、Fbx110 ノックアウトを移植されたマウスは有意なキメリズムの低下を認めた。さらに、正常コントロールマウスおよび Fbx110 ノックアウトマウスの造血幹細胞に MLL-AF4 融合白血病誘導遺伝子を発現させ骨髄移植を行なった結果、Fbx110 の欠失が白血病抵抗性を誘導することを見いだした。これらの結果は、Fbx110 は正常造血幹細胞および白血病幹細胞の活性維持に必要であることを示している。

今後の展望

今後、コントロールマウスおよび Fbx110 ノックアウトマウスから単離した造血幹細胞を用いてトランスクリプトームを行ない、その基盤となる分子機構について解析する予定である。

発表論文

投稿準備中

重 2-9

がん細胞における染色体不安定性の成因の
解明

研究組織

共同研究代表者：池田 真教

(東北大学加齢医学研究所：助教)

共同研究者：田中 耕三

(東北大学加齢医学研究所：教授)

國安 絹枝

(東北大学加齢医学研究所：大学院生)

受入研究代表者：田代 聡

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究では、蛍光顕微鏡を用いた染色体動態や動原体－微小管結合の解析により、染色体分配の異常が染色体不安定性の要因になる可能性について検証した。

- (1)染色体の均等分配は、染色体の紡錘体中央への整列を必須とする。染色体整列に関わるモーター分子キネシン (Kid, MCAK, HSET, KIF4A) やダイニン関連分子 (Zw10, p150) を発現抑制した細胞では、染色体整列に異常は認められなかった。しかし、いずれの場合も染色体整列の完了に遅延が生じ、染色体の分離異常や微小核の形成といった染色体不安定性で特徴的な表現型を呈することを明らかにした。
- (2)染色体が紡錘体中央に移動する際、動原体は微小管側面に結合することが示唆されている。整列が遅延した染色体の動原体－微小管結合を解析したところ、これらの染色体では側面結合を形成せず、誤った動原体－微小管が増加することを明らかにした。

以上の結果から、動原体の微小管側面への結合は、効率的な染色体整列を促し、この機構の破綻により引き起こされる軽微な染色体分配の異常が染色体不安定性の成因となる可能性が示唆された。今後の解析により、分裂期染色体動態の異常による疾患の病態生理が明らかになることが期待される。

発表論文

なし

重 2-10

Pin 1 欠失の慢性骨髄性白血病発症・進展
に対する関与の解析

研究組織

共同研究代表者：丸 義朗

(東京女子医科大学医学部薬理学教室：主任教授)

共同研究者：塚原 富士子

(東京女子医科大学医学部薬理学教室：講師)

受入研究代表者：本田 浩章

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

慢性骨髄性白血病は融合遺伝子 p210BCR/ABL により発症する造血器悪性腫瘍である。臨床的には、分化傾向を有する顆粒球系細胞が徐々に増加する慢性期を数年経過した後、不可避免的に幼稚芽球が急激に増加する急性白血病に似た病態に移行する（急性転化）。急性転化については、2 次的遺伝子異常の関与が示唆されているが、その機構は不明の点が多い。この共同研究では、受入研究者が作製した慢性骨髄性白血病を発症する p210BCR/ABL トランスジェニック (Tg) マウスに、Pin1 コンディショナル KO (cKO) マウスを掛け合わせるにより、慢性骨髄性白血病急性転化における Pin1 の役割について検討することを目的としている。

p210BCR/ABL Tg マウスと Pin1 cKO マウスを掛け合わせた p210BCR/ABL Tg/ Pin1 cKO マウスの慢性骨髄性白血病の病態の解析（白血球数、赤血球数、ヘモグロビン濃度、血小板数の測定等）を行い、Pin 欠失 p210BCR/ABL Tg マウスの病態進行にたいする影響を検討する予定である。

発表論文

なし

重 2-11

Spred-1 欠損による慢性骨髄性白血病の進展・発症への関与の解析

研究組織

共同研究代表者：平尾 敦

(金沢大学がん進展制御研究所：教授)

共同研究者：田所 優子

(金沢大学がん進展制御研究所：助教)

受入研究代表者：本田 浩章

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

Spred-1 は Ras/Raf/Erk シグナルを抑制する因子として発見され、FGF, EGF, Kit リガンド, IL-3 などのシグナルを抑制することが知られている。ヒトにおける Spred-1 の変異では Nf-1 様症候群として診断される。本共同研究の目的は、慢性骨髄性白血病の病態における Spred-1 活性の関与について明らかにすることを目的とする。本研究では p210 Bcr/Abl トランスジェニック /Spred-1 コンディショナルノックアウトマウスを作製し、解析を行っている。本年度は、これらマウスの造血幹細胞を採取し、in vitro のコロニー形成能解析において、チロシンキナーゼ阻害薬イマチニブに対する反応性を評価した。その結果、Spred-1 (-/-) ;Bcr/Abl 陽性造血幹細胞では Spred-1 (+/+) ;Bcr/Abl 陽性造血幹細胞に比べてイマチニブに対する抵抗性を示すことが明らかとなった。今後は、in vivo におけるチロシンキナーゼ阻害薬に対する反応性についてさらに詳細な解析が必要であると考えられた。

発表論文

なし

重 2-12

造血器悪性腫瘍の発症・進展に関与するエピゲノム異常の解析

研究組織

共同研究代表者：松井 啓隆

(熊本大学大学院生命科学研究部 臨床病態解析学分野：教授)

共同研究者：神力 悟

(熊本大学大学院生命科学研究部 臨床病態解析学分野：講師)

受入研究代表者：長町 安希子

(広島大学原爆放射線医科学研究所附属放射線先端医学実験施設：助教)

受入研究者：金井 昭教

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究課題では、骨髄異形成症候群や急性骨髄性白血病をはじめとする造血器悪性腫瘍発症の分子メカニズム解析を共同で実施した。熊本大学でのサンプル作成後、広島大学原医研の次世代シーケンサーを用いた RNA-seq 解析等を実施し、DDX41 遺伝子変異がもたらす造血細胞表現型変化を明らかにした。2017 年度には、これに引き続いて、遺伝子改変動物の作成を含む共同研究の展開を計画している。

発表論文

1. Hasegawa N, Oshima M, Sashida G, Matsui H, Koide S, Saraya A, Wang C, Muto T, Takane K, Kaneda A, Shimoda K, Nakaseko C, Yokote K, Iwama A. Impact of combinatorial dysfunctions of Tet2 and Ezh2 on the epigenome in the pathogenesis of myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 2016 (in press).
2. Ueda T, Nakata Y, Nagamachi A, Yamasaki N, Kanai A, Matsui H, Honda ZI, Oda H, Wolff L, Inaba T, Honda H. Propagation of tri-methylated H3K27 regulated by EED is required for embryogenesis, hematopoietic maintenance, and tumor suppression. *PNAS* 113(37): 10370-10375, 2016.
3. Kadono M, Kanai A, Nagamachi A, Shinriki S, Kawata J, Iwato K, Kyo T, Oshima K, Yokoyama A, Kawamura T, Nagase R, Inoue D, Kitamura T, Inaba T, Ichinohe T, Matsui H. Biological implication of

somatic DDX41 p.R525H mutation in acute myeloid leukemia. *Exp. Hematol.* 44(8): 745-754, 2016.

重2-13

アスコルビン酸の新たな機能探索による効果的がん抑制と放射線防護

研究組織

共同研究代表者：土生 敏行

(武庫川女子大学食物栄養学科：准教授)

受入研究代表者：河合 秀彦

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線被ばくは画一的な影響評価であり、遺伝的背景を基にした評価により影響の多様性を導き出しているのが一般的である。ヒトの健康を評価する際に遺伝的背景のみならず、食物の摂取により健康は大きく左右されることは周知のことである。ビタミンは恒常性維持に必須の物質であり、多くの欠乏症の存在が知られている。アスコルビン酸は抗酸化作用を持つビタミンで、コラーゲンを介した間質組織等の維持に、また抗がん作用を示すことなど様々な機能を持つと言われている。

本申請研究ではアスコルビン酸合成欠損マウスを用い低線量放射線被ばくにとの相関を明らかにし、被爆への影響を軽減できる食物摂取のあり方を理解することを目的とした。

古くよりビタミンCが抗がん作用を示すことは報告がある。よってアスコルビン酸合成酵素 (Gulo) 欠損マウスを作成し、ビタミンCを合成不可なマウスにおける発がんへの影響を調査する。がん多発マウスとの掛け合わせにより Gulo 欠損マウスとの二重変異マウスを獲得し繁殖を行っている。このマウスに含有初物質を投与し、早期の発がんへの影響を調べていく予定である。

本申請研究では生活環境の食の側面より、放射線被ばく影響を考える研究で、遺伝的背景では説明できない影響を抽出できる可能性があると考えられる。一方栄養学的な調査に留まらず放射線防護の観点に着目し、分子レベルで影響学へアプローチすることから栄養摂取の遺伝的背景を考慮した新たな放射線影響学を広げることには貢献できると考えられる。

発表論文

PTP1B controls non-mitochondrial oxygen consumption by regulating RNF213 to promote tumour survival during hypoxia

Robert S. Banh, Caterina Iorio, Richard Marcotte, Yang

Xu, Dan Cojocari, Anas Abdel Rahman, Judy Pawling, Wei Zhang, Ankit Sinha, Christopher M. Rose, Marta Isasa, Shuang Zhang, Ronald Wu, Carl Virtanen, Toshiaki Hitomi, Toshiyuki Habu, Sachdev S. Sidhu, Akio Koizumi, Sarah E. Wilkins, Thomas Kislinger, Steven P. Gygi, Christopher J. Schofield, James W. Dennis, Bradly G. Wouters and Benjamin G. Neel.

Nature Cell Biology **18**(7), 803-13 (2016)

RNF213 rare variants in Slovakian and Czech moyamoya disease patients

Hatasu Kobayashi, Miroslav Brozman, Kateina Kyselova, DaaViszlayova, Takaaki Morimoto, Martin Roubec, David koloudik, Andrea Petroviova, Dominik Juskani, Jozef Strauss, Marian Halaj, Peter Kurray, Marian Hranai, Koji Harada, Sumiko Inoue, Toshiyuki Habu, Roman Herzig, Akio Koizumi

PLOS One **11**(10) e0164759 (2016)

重 2-14

正常 B リンパ球由来 iPS 細胞を用いた多発性骨髄腫の腫瘍起源異常 B リンパ球の解明

研究組織

共同研究代表者：坂井 晃

(福島県立医科大学放射線生命科学:教授)

共同研究者：川村 文彦

(福島県立医科大学放射線生命科学:助手)

阿部 悠

(福島県立医科大学放射線生命科学:教授)

吉田 光明

(弘前大学被ばく医療総合研究所:教授)

受入研究代表者：神谷 研二

(広島大学原爆放射線医科学研究所:教授)

受入研究者：笹谷 めぐみ

(広島大学原爆放射線医科学研究所:助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

正常なリンパ節由来の B リンパ球から iPS 細胞を樹立 (BiPSC) し tet-off システムで AID を発現誘導可能とした (BiPSC-AID)。これらの細胞は成熟 B リンパ球と同様の IgH 鎖遺伝子再構成を持つ iPS 細胞であり、CD34+/CD38- の造血前駆細胞に分化可能であった。

今後、免疫不全マウス (NOG) の骨髄へ移植し多発性骨髄腫または B リンパ系腫瘍の形成が可能か検証予定である。

発表論文

Kawamura F, Inaki M, Katafuchi A, Abe Y, Tsuyama N, Kurosu Y, Yanagi A, Higuchi M, Muto S, Yamaura T, Suzuki H, Noji H, Suzuki S, Yoshida MA, Sasatani M, Kamiya K, Onodera M, Sakai A. Establishment of induced pluripotent stem cells from normal B cells and inducing AID expression in their differentiation into hematopoietic progenitor cells. Scientific Reports. (in press).

重2-15

細胞外マトリックスバーシカンの代謝によるがん微小環境の変容

研究組織

共同研究代表者：渡辺 秀人

(愛知医科大学分子医科学研究所：教授)

共同研究者：永井 尚子

(愛知医科大学分子医科学研究所：助教)

土本 純

(愛知医科大学分子医科学研究所：助教)

受入研究代表者：長町 安希子

(広大原医研附属放射線先端医学実験施設：助教)

受入研究者：本田 浩章

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究の目的は、細胞外マトリックス (ECM) の代表的なプロテオグリカンであるバーシカン (Vcan) のがん微小環境形成維持における役割を遺伝子改変マウスの解析を通じて解明することである。Vcan は ECM の構成分子で、炎症・修復等、組織が変容を遂げる際に一過性に高発現し、組織修復に関与すると考えられている。Vcan は ADAMTS 群の蛋白質分解酵素によって分解され、その分解産物が生理活性を有することが徐々に明らかになってきた。本研究では ADAMTS 群によって切断される部位に変異を加えた ADAMTS 抵抗性 Vcan を発現する遺伝子改変マウス Vcan<R/R> を作出 (広島大学・本田浩章教授、長町安希子助教に依頼) し、解析を行った。その結果、Vcan<R/R> マウスでは合指症が観察されたがその他の異常は観察されなかった。腫瘍移植実験では Vcan<R/R> マウスで移植腫瘍が小さい傾向がみられたが統計学的有意差は認められなかった。種々の炎症作出実験では Vcan<R/R> マウスにおいて炎症が軽度な傾向が観察された。このことは、Vcan に炎症寛解機能が存在するか、ADAMTS による Vcan 分解産物に炎症増悪作用が存在することを示している。今後は、強い炎症を伴う腫瘍移植実験を実施し、腫瘍に伴う炎症状態への宿主 Vcan の分解の意義を明らかにしたい。

発表論文

なし

重2-16

放射線被ばく時の正常細胞における PD-1/PD-L1 を介した免疫応答メカニズムの解明

研究組織

共同研究代表者：佐藤 浩央

(群馬大学医学部附属病院：医員)

受入研究代表者：山内 基弘

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

目的：放射線治療はがん治療の三本柱の一つとしてがん治療で重要な位置を占めている。近年、抗 PD-1/PD-L1 抗体を用いたがん免疫治療法は、高い治療成績が示され大きな注目を集めている。申請者は、放射線及び免疫治療併用の最適化に向け、放射線照射後の PD-1/PD-L1 免疫応答の研究を行っている。これまでの申請者の研究により、放射線照射後の 24-72 時間の時間帯において、がん細胞側のリガンドである PD-L1 の発現が上昇することが明らかになりつつある。本研究では放射線被ばくという側面からの PD-1/PD-L1 免疫反応機構の解明を目指し、ヒト正常初代培養線維芽細胞を用いて、放射線照射後の PD-L1 発現誘導の有無を解析した。その結果、がん細胞株である U2OS 細胞では放射線誘導の PD-L1 発現が認められたが、ヒト正常初代培養線維芽細胞では PD-L1 の発現誘導は認められなかった。今後はヒト正常初代培養線維芽細胞では PD-L1 の発現誘導がなぜ抑制されているかの分子機構について研究を行う。

発表論文

なし

重 2-17

粒子線によって誘発される染色体転座と染色体テリトリーの関連性

研究組織

共同研究代表者：新美 敦子

(群馬大学未来先端研究機構：助教)

受入研究代表者：山内 基弘

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線によって誘発される変異の中でも染色体転座は細胞の生死を左右する重篤なゲノム不安定化を引き起こすことから、本研究では放射線照射後の染色体転座発生メカニズムの解明を目的とする。申請者は、染色体転座解析の経験が豊富な長崎大学・山内基弘助教の指導の下、DNA二本鎖切断 (DSB) マーカーと染色体を共染色することにより、放射線によって誘発される染色体テリトリーと放射線誘発 DSB を可視化することに成功した。染色体テリトリーと放射線誘発 DSB の相関性解析を行った結果、重粒子線誘発 DSB は X 線照射と比較して、異なる染色体間にまたがる DSB を誘発する頻度が高いことが明らかになった (Niimi et al., Gene Chromosome and Cancer, 2016)。この結果は、重粒子線が X 線よりも染色体転座を誘発しやすいことと相関していると考えられる。さらに本研究を発展させるため、本年度は重粒子線照射後に生じる DSB の密集性について超高解像度顕微鏡 OMX を用い検討を進めた。その結果、重粒子線が通過した粒子の軌道上には複数の RPA foci (相同組換え修復時に集積するタンパク質) が密集して生じることが確認された。今後はこれらの密集性 DSB がどのような過程を経て染色体転座を引き起こすかについて研究を進める。

発表論文

無し

重 2-18

正常ヒト細胞における反復放射線照射獲得耐性機構の解明

研究組織

共同研究代表者：鈴木 正敏

(東北大学加齢医学研究所：助教)

受入研究代表者：鈴木 啓司

(長崎大学原爆後障害医療研究所：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究ではヒト正常二倍体細胞を用いて、反復照射耐性獲得に関する検討を行った。ヒト正常二倍体細胞には、網膜色素上皮由来細胞を hTERT で不死化させた RPE1-hTERT 細胞を使用した。反復照射は 1 日 1 回の X 線照射を連続で行い、一定回数の反復照射後に分裂増殖する細胞を耐性獲得の指標とした。30 回の反復照射を行ったところ、1 日 1.5 Gy 以上ではほぼ全ての細胞で老化様増殖停止が誘導され、反復照射を終えて 2 ヶ月間培養したが生存コロニーは確認されなかった。このことから、平成 28 年度は 1 日 1.5Gy、30 回以上の反復照射に対して分裂増殖が可能となる、反復照射耐性 RPE1-hTERT 細胞の樹立を目的とした。1 日 1.5Gy の分割照射開始 7 日目まではゆるやかに細胞数は増加したが、それ以降は細胞数の増加が顕著に抑制された。そこで、1.5Gy の反復照射を 3 回あるいは 5 回終了した後に反復照射を一旦終了させ、30 日間継代培養を続けて生存細胞を回収した。それぞれの生存細胞に対して 1.5Gy の反復照射を再開し、反復照射耐性獲得について検討した。事前に 3 回の反復照射を行った生存細胞では反復照射 30 日目では一部ではあるが細胞分裂を続ける細胞が確認されたが、反復照射をさらに継続すると最終的には増殖を停止したために反復照射耐性を獲得できなかったと判定した。事前照射を 5 回行った生存細胞からは、100 回以上の分割照射期間でも分裂増殖を続ける細胞が出現した。独立した試験によって 2 群の反復照射耐性細胞を樹立した。1.5Gy と 5Gy の単回照射に対する放射線感受性を検討したところ、いずれの反復照射耐性細胞も親株に対して放射線抵抗性を示す事を確認した。本年度は、従来よりも単純な事前照射によってヒト正常二倍体細胞に反復照射耐性能を誘導した。今後は反復照射耐性細胞の特徴を解析すると共に、放射線治療で用いられている 1 日 2Gy の反復照射に対する耐性を検討する予定である。

発表論文

なし

重 2-19

重粒子線治療における放射線応答の解析

研究組織

共同研究代表者：下川 卓志

(量研機構放医研障害治療：主任研究員)

共同研究者：坂本 慶充

(量研機構放医研障害治療：連携大学院生)

東 梨佳子

(量研機構放医研障害治療：連携大学院生)

受入研究代表者：金井 昭教

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線治療を含むがん治療において転移の克服や個体レベルでの応答の変動は重要な問題である。我々は重粒子線治療の基礎研究としてマウスモデルを利用して、がん転移抑制の効率化や、治療効果に関する個体変動に関する解析を進めてきた。さらに、その解析に必要な細胞株の樹立なども進めている。樹立した高転移株や照射後の遠隔腫瘍での代表的な遺伝子を対象とした発現解析において、幾つかの遺伝子について発現の変化を認めたが、対象とする現象の変化を十分に説明には至っていない。そこで、本共同研究では、網羅的な発現解析による解析対象の変化の全体像を明らかにすることを目的としている。

H27 年度は、当方で樹立した高転移株について NGS 解析を行い、現在詳細を解析中ではあるが、すでに得られている現象を説明しうる遺伝子発現変化が認められた。

本年度は、我々が用いている重粒子線がん治療マウスモデルの腫瘍における炭素イオン線照射による遺伝子発現変動について NGS による解析を行った。非照射腫瘍、照射腫瘍、遠隔非照射腫瘍における遺伝子発現を比較したところ、照射腫瘍における炭素イオン線による障害に起因すると考えられる損傷応答や免疫誘導が認められた。さらに照射されていない遠隔腫瘍においても、弱いながら同様の遺伝子変動が起こることが明らかになった。

今後は、今回得られた結果の再現性や照射後の経時変化を確認し、特徴的な変動パターンを示す遺伝子の同定を目指す。さらに免疫療法などとの併用時の腫瘍での遺伝子発現変動についても解析を行う予定である。

発表論文

なし

重 2-20

悪性グリオーマ細胞の放射線感受性の検討

研究組織

共同研究代表者：濱 聖司

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院脳神経科学：研究員)

共同研究者：栗栖 薫

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院脳神経科学：教授)

高安 武志

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院脳神経科学：大学院生)

受入研究代表者：松浦 伸也

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、広島大学原爆放射線研究所にあるガンマセルを用いて、ヒト悪性グリオーマ培養細胞に放射線を照射する実験を行った。以前、我々の研究室では、悪性グリオーマ培養細胞に放射線照射を行い、p16 遺伝子、あるいは p21 遺伝子導入して G1/S 期で細胞周期を停止すると、多核化を伴った非アポトーシス性の細胞死が引き起こされ、放射線感受性が高まることを示した。また、Survivin の発現を抑制すると、G2/M 期で細胞周期が止まって、多核化を伴った非アポトーシス細胞死が引き起こされ、放射線感受性が高まることを示した。更に、染色体不安定性（中心体過剰複製）は、p16 遺伝子発現で引き起こされる G1/S 期での細胞周期の停止でも認められることを明らかにして、G1/S 期と G2/M 期がライセンス化因子を介して強く関連して分裂細胞死が引き起こされるという現象も明らかに出来た。

今後、放射線照射後に引き起こされる細胞死の機序を解明するための基礎的な研究を行う予定である。また、中性子捕捉療法の基礎的な検討も行う予定である。本年度はその準備を進めた。臨床検体から初代継代した培養細胞を使用する可能性もあり、その条件設定を行った。また、中性子照射を行う為に、大阪大学で照射実験を行う準備も進めている。

脳神経外科医局の引っ越しがあり、ウイルス実験の申請をやり直す必要もあって、実験は遅れてしまったが、現在、放射線照射実験の準備を進めていて、平成 29 年度は本格的な照射実験を行う予定である。

発表論文

重 2-21

重粒子線に対する DNA 損傷応答反応の解析

研究組織

共同研究代表者：中村 麻子

(茨城大学理学部：准教授)

受入研究代表者：鈴木 啓司

(長崎大学原爆後障害医療研究所：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

がんの放射線療法は、患者に優しい治療法として広く用いられているが、特に最近では、難治性の癌に対する有効な治療法として重粒子放射線による治療が注目を集めている。高 LET 放射線である重粒子放射線は、高密度の電離を引き起こすことによって難治性のクラスター損傷を引き起こし、このことが高いがん細胞殺傷能力の基盤になっていると考えられている。しかしながら、重粒子放射線によって誘発された DNA 損傷の修復キネティクスは十分に明らかにされていない。そこで本申請では、ライブイメージング技術を駆使して、重粒子放射線によって誘発された DNA 損傷の修復動態を解析する研究を計画した。

今年度は、不死化正常ヒト細胞である BJ1-hTERT 細胞に、蛍光タグのついた 53BP1 タンパク質の一部を発現するベクターを導入した細胞 (BJ1-53BP1-2) を用い、BJ1-53BP1-2 細胞に X 線照射し、内在性 DNA 損傷応答因子と mCherry-53BP1 のフォーカス形成を比較検討することで、mCherry-53BP1 の DNA 損傷応答が内在性の DNA 損傷応答と同様であることを確認した。次に、重粒子線 (炭素線) を BJ1-53BP1-2 細胞に照射し、53BP1 フォーカスの時空間的变化を 53BP1 抗体および mCherry 抗体による免疫染色法によって検討した。現在、データの解析を行うとともに、重粒子線照射後のライブイメージング解析のためのセットアップを行っている。本研究を遂行することにより、LET 依存的な DNA 損傷修復キネティクスが分子レベルで明らかとなり、LET の違いによる生物影響を評価するうえで有益な情報を得ることができると期待する。

発表論文

なし

重 2-22

ラット乳腺における LRC と DNA 損傷保持

研究組織

共同研究代表者：今岡 達彦

(量研機構放射線医学総合研究所放射線
防護研究センター：チームリーダー)

受入研究代表者：鈴木 啓司

(長崎大学原爆後障害医療研究所：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

低線量率・低線量放射線の健康リスク評価の基盤になっている直線閾値なし (LNT) モデルは、放射線が、放射線発がんのイニシエーションにのみ関与することを前提としている。しかしながら、最近の幹細胞生物学の進展により、発がんの標的細胞としての組織幹細胞において、LNT モデルの検証が分子レベルで可能になってきた。そこで本研究では、発がんリスクの最も高い、すなわち、組織加重係数の最も高い組織の一つである乳腺に着目して、組織幹細胞における DNA 損傷を追跡し、LNT モデルの成立基盤を検証することを目的とした。

今年度、乳腺幹細胞における DNA 損傷の誘発と修復の検討を継続し、乳腺幹細胞における損傷細胞排除の検討に着手した。具体的には、EdU で標識された乳腺組織中の標識保持細胞 (Label retaining cell; LRC) において、放射線照射による DNA 二重鎖切断の生成と修復を検討するために、EdU 投与後のラットに放射線を照射し、継時的に乳腺組織を採取し、ホルマリン中で固定した後パラフィン包埋を行った。ついで、薄切切片を作成後に長崎大学に送付し、長崎大原研の画像解析装置にて解析を実施した。今後、LRC の動態や DNA 損傷の動態の解析を展開する。

発表論文

重 2-23

妊娠・出産による放射線誘発ラット乳がん
のリスク低減化のメカニズム

研究組織

共同研究代表者：高島 賢

(量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所放射線影響研究部：博士研究員)

受入研究代表者：飯塚 大輔

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

妊娠・出産経験した女性は乳がんのリスクが低下することが知られている。申請者はラット乳がんモデルを用いて思春期前の被ばくでは妊娠・出産経験により乳がんのリスクが減少することを明らかにした。妊娠・出産による乳がんリスクの低下では乳腺幹細胞の数や増殖能が変化することが知られているが、それらの変化と放射線誘発乳がんの関係は明らかになっていない。本研究では、放射線誘発乳がんのモデル動物であるラットを用いて妊娠・出産経験によって放射線誘発乳がんリスクが減少するメカニズムを乳腺幹細胞とその増殖能の違いから明らかにすることを目的とした。本年度は、ラット乳腺をコラゲナーゼ処理によって細胞を単離する実験系を確立した。単離した細胞をCD49f、CD24抗体を使用してフローサイトメータで解析することによって乳腺の内腔および基底細胞に分画することに成功した。さらに、CD49f、CD24、CD61抗体を使用することにより内腔前駆細胞と思われる細胞の分画にも成功した。今後は、妊娠・出産経験や被ばくの有無によって幹細胞を含むどの乳腺細胞分画が変化するかを明らかにし、妊娠・出産経験が放射線誘発乳がんのリスクを下げるメカニズムを明らかにしていく。

発表論文

1. 高島 賢, 臺野 和広, 今岡 達彦, 森山 ひとみ, 蒲地 雄大, 西村 まゆみ, 柿沼 志津子, 福士 政広, 島田 義也: 妊娠・出産経験が与える乳癌への影響 ～放射線リスクを交えて～. 印刷中
2. 今岡達彦, 高島賢, 鶴岡千鶴, 西村由希子, 飯塚大輔, 島田義也, 柿沼志津子: 乳腺の幹細胞系: 細胞表面マーカーと細胞系譜追跡の研究から. 印刷中

重 2-24

放射線誘発肝がん原因遺伝子の探索

研究組織

共同研究代表者：尚 奕

(国立研究開発法人放射線医学総合研究所：研究員)

受入研究代表者：鈴木 啓司

(長崎大学原爆後障害医療研究所：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線被ばくによる発がんリスクの増加がよく知られており、特に子どもへの影響が懸念される。これまでに、我々は放射線誘発マウス肝がんモデルを用いて、子ども期被ばくによる肝がんリスクの増加と大人からのカロリー制限による肝がん抑制効果を報告した。また、これまで受入研究者との共同研究では、被ばく後肝臓細胞の挙動、特に損傷細胞排除機構の年齢依存性についても明らかになりつつある。しかし、前がん病変の増殖活性はまだ不明である。本研究は肝がん原因遺伝子の探索を目的として、異なるカロリー摂取条件下で採取した肝組織の前がん病変を観察し、細胞増殖活性等病理学的特徴を受入研究者（鈴木啓司、長崎大学）の指導のもとで実験系の確立に向けて条件検討を行った。今後は受入研究者との共同研究によって、進めてきた被ばく直後から前がん病変の出現までの、肝臓細胞の増殖活性等の特徴及びカロリー制限の寄与を明確にする。これらの知見が放射線発がん機構のみならず、カロリー制限のがん予防機構への理解、応用に繋がる。

発表論文

なし

重 2-25

カロリー制限が放射線誘発急性骨髄性白血病を抑制するメカニズムの探索

～造血幹細胞の細胞動態に伴う PU.1 遺伝子の発現～

研究組織

共同研究代表者：小嶋 光明

(大分県立看護科学大学：講師)

受入研究代表者：鈴木 啓司

(長崎大学原爆後障害医療研究所：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

カロリー制限が放射線誘発急性骨髄性白血病 (rAML) の発症率を抑制することが報告されている。しかし、この抑制メカニズムは明らかではない。これまでの研究で、rAML を発症した C3H マウスでは 2 番染色体上の PU.1 遺伝子の欠失と、対立する 2 番染色体の PU.1 遺伝子のコドン 235 に C → T の点突然変異が生じているがわかっている。これらのうち前者は放射線照射後 24 時間で生じることが明らかにされているが、後者の生成メカニズムは明らかではない。C → T の点突然変異は自然突然変異の一つであることから、本研究では放射線照射後の造血幹細胞 (HSC) の細胞動態の変化が関与しているのではないかと考えた。そこで、本研究ではカロリー制限が放射線照射後の HSC の細胞動態にどのような影響を与えるのか明らかにすることを目的とした。7 週齢の C 3 H マウス (雄) に 95 kcal/ 週 (非カロリー制限群) または 65 kcal/ 週 (カロリー制限群) になるように餌の量を調整して飼育した。飼育を開始してから 1 週間後に両群に 3 Gy の X 線を全身に照射し、7 日目、30 日目、140 日目、280 日目に大腿骨から LSK 細胞 (Lin⁻, sca-1⁺, c-kit⁺) を単離し、細胞数、Ki67 発現細胞、PU.1 遺伝子の機能異常をそれぞれ調べた。その結果、非カロリー制限群に放射線を照射すると Ki67 を発現している細胞 (細胞増殖の指標) の割合が照射後 280 日経っても有意に高いことが分かった。この結果は、非カロリー制限群では放射線照射後 DNA 複製ストレスが長期間かかっていることを意味している。PU.1 遺伝子のコドン 235 に点突然変異が生じると GM-CSF (顆粒球単球コロニー刺激因子) と結合ができなくなることが知られている。そこで、PU.1⁺/GM-CSF⁻ を PU.1 遺伝子に機能異常が生じている細胞として解析したところ、放射線照射後 280 日目の非カロリー制限群では、PU.1⁺/GM-CSF⁻ 細胞の割合が増加していることがわかった。カロリー制限群で

はこれらの現象は見られなかった。よって、カロリー制限をしながら放射線を照射すると LSK 細胞に DNA 複製ストレスがかからなくなるため、rAML の発症の抑制につながるのではないかと考えられた。

発表論文

なし

重 2-26

原爆被爆者に発症する骨髄異形成症候群の実態の解明

研究組織

共同研究代表者：今西 大介

(長崎県五島中央病院血液内科：医長)

受入研究代表者：宮崎 泰司

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

受入研究者：佐藤 信也

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、長崎県五島中央病院における原爆被爆者に発症した骨髄異形成症候群（MDS）の疫学調査を行うことで原爆被爆者の MDS 発症リスクの実態を更に明らかにすることが目的である。

今回は MDS の診断に必須である形態診断をより正確に行うため、長崎大学病院血液内科、および、長崎県五島中央病院血液内科が合同でスミアカンファランスを開催し、MDS 20 症例について診断の確認を行った。

今後は、長崎県五島中央病院で発症する MDS の前方視的調査体制を確立する。被爆者 MDS の比較対象として、非被爆者 MDS の臨床情報も併せて収集する。さらに、過去 5 年間の症例を調査し、被爆者および非被爆者 MDS の臨床的実態を明らかにする。具体的には以下を実施する。

- 1) 長崎県五島中央病院での MDS の臨床情報を前方視的に収集し、データベース化する。
- 2) 同病院で過去 5 年間に診療した全 MDS の臨床情報を収集する。
- 3) 1) 2) で収集した症例の治療内容、発症に関わる要因、病型、治療成績、予後についての解析を行う。

発表論文

重 2-27

原爆被爆者に発症する骨髄異形成症候群の実態の解明

研究組織

共同研究代表者：吉田 真一郎

(長崎医療センター血液内科：医長)

共同研究者：牧山 純也

(長崎医療センター血液内科)

中島 潤

(長崎医療センター血液内科)

北之園 英明

(長崎医療センター血液内科)

受入研究代表者：宮崎 泰司

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

受入研究者：佐藤 信也

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、長崎医療センターにおける原爆被爆者に発症した骨髄異形成症候群（MDS）の疫学調査を行うことで原爆被爆者の MDS 発症リスクの実態を更に明らかにすることが目的である。

今回は MDS の診断に必須である形態診断をより正確に行うため、長崎大学病院血液内科、および、長崎医療センター血液内科が合同でスミアカンファランスを開催し、20 症例の MDS について診断の確認を行った。

今後は、長崎医療センターで発症する MDS の前方視的調査体制を確立する。被爆者 MDS の比較対象として、非被爆者 MDS の臨床情報も併せて収集する。さらに、過去 5 年間の症例を調査し、被爆者および非被爆者 MDS の臨床的実態を明らかにする。具体的には以下を実施する。

- 1) 長崎医療センターでの MDS の臨床情報を前方視的に収集し、データベース化する。
- 2) 同病院で過去 5 年間に診療した全 MDS の臨床情報を収集する。
- 3) 1) 2) で収集した症例の治療内容、発症に関わる要因、病型、治療成績、予後についての解析を行う。

発表論文

重 2-28

放射線誘発マウス肺がんの特徴とは？－病理組織解析からのアプローチ

研究組織

共同研究代表者：山崎 隼輔

(国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所：博士研究員)

受入研究代表者：鈴木 啓司

(長崎大学原爆後障害医療研究所：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

近年、原爆被爆者の調査により、肺がんのリスクが増加していることが報告されている。また、がん治療における放射線治療の利用者の増加に伴って、放射線治療後の二次がんとしての肺がんリスクが増加の一途をたどっており、その対策が急務とされている。現在、放射線被ばくにより誘発される肺がん機構の解明はその対策・予防に有用と考えられているが、研究報告例は少なく不明な点が多い。そこで、本研究は7週齢時において、0.05、0.2、1、2、4 Gyのガンマ線、炭素線(13 KeV/μm)、あるいは中性子線(2 MeV)を照射したB6C3F1マウス(雄、雌)および非照射群に発生した肺腫瘍試料を用いて、病理組織学的な視点により放射線被ばくの特徴を評価することを目的として実験を行った。長崎大学、鈴木啓司先生により免疫蛍光および免疫組織化学染色法を用いて、一般的に細胞増殖の指標とされているKi-67のタンパク質発現を評価した。その結果、放射線誘発肺腫瘍においてKi-67陽性細胞が観察されたことから、放射線被ばくにより細胞増殖が促進されていることが示唆された。

今後は、1週齢時における放射線誘発マウス肺がんの特徴的な病理形態変化および発がん機構を解明し、7週齢時の結果と比較検討することで放射線誘発肺がんの年齢依存的な違いを探索することができる。

発表論文

なし

重 2-29

Is the common SNP rs966423 at chromosome 2q35 etiology-specific and confers risk for sporadic thyroid cancer only?

Research Organization:

Representative Joint Researcher: Tatsiana Leonava (Head of the Consultative and Diagnostic Department of Thyroid Diseases, Minsk City Clinical Oncology Dispensary, Minsk, Belarus)

Joint Researcher: Tatiana Mityukova (Senior Researcher, Department of Multidisciplinary Diagnostic, Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus)

Representative Resident Researcher: Vladimir Saenko (Associate Professor, Atomic Disease Institute, Nagasaki University)

Resident Researcher: Tatiana Rogounovitch (Assistant Professor, Atomic Disease Institute, Nagasaki University)

Contents, Results, and Prospects of Study

Previous GWA study in European populations reported an association between adult sporadic papillary thyroid carcinoma (PTC) and rs966423 (2q35) in the *DIRC3* gene intron. In contrast, our previous study, which enrolled radiation-induced PTCs from Belarus and Ukraine, did not find significant correlation. Thus, rs966423 may be a SNP conferring risk for sporadic PTC only, and we proposed to test this hypothesis using sporadic PTCs from Belarusian adult patients. We collected 192 blood samples from patients, who lived in the contaminated after Chernobyl areas and were operated at the age of 48.6 ± 0.52 (range 34-76) years. Mean age of patients at the moment of the Chernobyl catastrophe was 30 ± 0.525 (range 18.4-60), the period of latency was 18.3 ± 0.25 (range 5-33), and 2251 controls from Belarus, Russia and Poland. We genotyped rs966423 in 192 Belarusian patients of the target age group. No significant association of rs966423 with risk of sporadic PTC ($p=0.157$; OR=1.412, 95% CI 0.876 to 2.276 adjusted for age and sex). We found an elevated odds for PTC but due to insufficient statistical power, statistical significance was not reached.

In the future, we propose to collect additionally 300 eligible PTC samples and in addition to perform genotyping of one more newly discovered in same locus (2q35) SNP, rs116 93806.

Presented papers

Poster presentation at the 90th Annual Meeting of the Japan Endocrine Society, April 20-22, 2017, Rohm Theatre Kyoto, Kyoto, Japan

Is the common SNP rs966423 at chromosome 2q35 etiology-specific and confers risk for sporadic thyroid cancer only?

T. Rogounovitch, V. Saenko, T. Leonava, V. Drozd, Y. Demidchik, M. Takahashi, T. Kawaguchi, N. Mitsutake, F. Matsuda, S. Yamashita

重2-30

有機シリカ金ナノ粒子複合体による分子標的診断治療技術の開発

研究組織

共同研究代表者：三澤 雅樹

((国) 産業技術総合研究所 (健康工学研究部門
セラノステクスデバイス研究 G : 主任研究員)

共同研究者：長谷川 功紀

(京都薬科大学薬学部：准教授)

中村 教泰

(山口大学大学院医学系研究科器官解剖学：教授)

受入研究代表者：久保 均

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、MRI や X 線での造影治療効果を持ち、腫瘍組織特異的な標的指向性を持った有機シリカ金ナノ粒子複合体を開発し、in vitro 系で体内動態、腫瘍集積性を検証することを目的としている。

本年度は、本予算を使用して三澤主任研究員が、福島県立医科大学先端臨床研究センター棟研究室3および災害医学・医療産業棟前臨床イメージング研究施設を訪問し、久保均教授らと RI 標識方法の確認と施設内機器を利用した動物実験について議論した。また、中村教授、久保教授、三澤主任研究員が、産業技術総合研究所にて、高感度・高性能イメージング、ドラッグデリバリー、遺伝子治療分野における有機シリカ金ナノ粒子複合体の診断治療用途に関する研究内容等について打ち合わせを行い、開発方針を確認した。

今後は、有機シリカ金ナノ粒子複合体の放射線治療等における効果的な投与方法を、福島県立医科大学先端臨床研究センターで検証する動物実験に向けた検討を行う。

発表論文

1. K Matsuda, JC Aguilar Lopez, M Misawa, M Yasumoto, S Rehman, Y Suzuki, A Takeuchi, I Niskanen, A microscope using Zernike's phase contrast method and a hard X-ray Gabor hologram, J European Optical Society-Rapid Publications, 12: 25, pp.1-7, 2016/11.

重 2-31

放射線誘発乳がんにおけるゲノム異常の線質依存性

研究組織

共同研究代表者：森山 ひとみ

(放医研放射線影響研究部：大学院課程研究員)

共同研究者：臺野 和広

(放医研放射線影響研究部：主任研究員)

受入研究代表者：飯塚 大輔

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

乳腺は放射線発がん感受性が最も高い組織の一つであり、原爆被爆や放射線治療に伴う被ばくによる乳がん罹患リスクの増加が、疫学調査により明らかにされている。中性子線は生物学的効果比が高い放射線の一つであり、複雑な DNA 損傷を起こすことから悪性度の高い腫瘍を誘発する可能性がある。しかし放射線誘発乳がんにおける線質依存的な違いに関する知見は少ない。本共同研究では、 γ 線誘発腫瘍のゲノム異常解析の経験のある広島大学と共同で、 γ 線及び中性子線被ばくにより誘発されたラット乳がんのゲノム解析を行った。

7 週齢（思春期後）の Sprague-Dawley ラットに 0.5 Gy の γ 線あるいは中性子線を照射し、発生した乳がんを用いた。レーザーマイクロダイセクションにより凍結切片から採取したがん組織の DNA を抽出し、アレイ比較ゲノムハイブリダイゼーション解析により DNA のコピー数変化をゲノム網羅的に評価した。非照射群から発生した乳がんも同様の解析を行い、照射群と比較した。結果、 γ 線照射群と中性子線照射群は、非照射群に比べ 1 Mb 以上の広範囲なゲノム欠失が多いことがわかった。また、最も高頻度にゲノム欠失が観察された領域には、ヒトの乳がんでも変異が報告がされているがん抑制遺伝子が存在していた。このゲノム欠失は、非照射群では観察されなかった。本共同研究により、放射線により誘発された乳がんには特徴的なゲノム変異が起こっている可能性が示唆された。

今後はより高線量の照射で発生した乳がんサンプルを追加し、線量依存性の評価を目指す。また、次世代シーケンズ技術を用い、観察されたゲノム変異の詳細な解析を行う。

発表論文

該当なし

重 2-32

鉄酸化細菌が作り出す酸化鉄 BIOX による放射線感受性増強メカニズムの研究

研究組織

共同研究代表者：久能 樹

(岡山大学自然科学研究科：講師)

共同研究者：高田 潤

(岡山大学自然科学研究科：特任教授)

受入研究代表者：笹谷 めぐみ

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

鉄酸化細菌 *Leptothrix* 属は、菌体表面から無数のナノ繊維を分泌し、連鎖状に増殖する菌体周囲にナノ繊維からなる鞘原基を形成する。この鞘原基に無機元素の鉄、リン、ケイ素等が沈着し、1 μ m 径チューブ状の酸化鉄“BIOX (Biogenous Iron Oxide)”が形成される。BIOX は、非晶質かつ高比表面積であり、鮮やかな顔料、化学合成の触媒、リチウム電池の負極材として高い材料学的機能性を発揮する。また、植物細胞への病原性カビの侵入阻害能を示し、ヒト培養細胞の細胞塊形成を促進するなど BIOX の新たな機能が注目されており、非晶質酸化鉄の重要性が示唆されている。昨年度、レーザー照射により微細化した BIOX の添加により、がん細胞の放射線感受性が増強されることを見出し、微細化 BIOX のがん細胞に対する親和性を向上させる必要性を確認した。

本年度は、レーザー照射に加え、ボールミル、スターラー攪拌による破碎法を導入し、条件検討した結果、数 nm ～ 100 nm の粒径の揃った微細化 BIOX の作製に成功した。今後は、粒径の異なる微細化 BIOX を用い、がん細胞に対する親和性、放射線感受性増強効果の検討を予定している。また、放射線感受性増強メカニズムを明らかにするため、がん細胞内における活性酸素種発生の可視化などを議論している。

発表論文

該当無し

重 2-33***Pathological determinants of tumors developing after different period of latency after exposure to Chernobyl radiation in Belarus*****Research Organization:**

Representative Joint Researcher: Mikhail Frydman (Head of the Department of Pathology, Minsk City Clinical Oncology Dispensary, Minsk, Belarus)

Joint Researcher 2: Sviatlana Kupryian (Doctor, Department of Oncology, Minsk City Clinical Oncology Dispensary, Minsk, Belarus)

Joint Researcher 3: Olga Krasko (Senior Researcher, Department of Statistics, United Institute of Informatics Problems, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus)

Joint Researcher 4: Svetlana Mankovskaya (Vice Director, Department of Molecular biology, Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus)

Representative Resident Researcher: Vladimir Saenko (Associate Professor, Atomic Disease Institute, Nagasaki University)

Resident Researcher 1: Masahiro Nakashima (Professor, Atomic Disease Institute, Nagasaki University)

Resident Researcher 2: Tatiana Rogounovitch (Assistant Professor, Atomic Disease Institute, Nagasaki University)

Contents, Results, and Prospects of Study

In our study we immunohistochemically assessed the impact of mutant BRAF oncogene in Belarussian patients, who were exposed to (131) iodine from Chernobyl fallout at early age (0-2 y.o.) in relation to the duration of the period of latency for PTC development. At first, we developed protocol for manual immunohistochemical analysis using anti-BRAF^{V600E} mouse monoclonal (VE1) antibody. We investigated 2 age group of patients diagnosed for PTC as children (0-14 y.o.) and young adults (20 y.o. and older). Many of pediatric cases were operated more than 20 years ago, and such paraffin sections could not be used for automatic method of immunohistochemistry.

Among 18 childhood PTCs, operated before 15 y.o., in

the period 1993-1997 we did not find any BRAFV600E positive cases. Such cases have solid, classic papillary and mixed growth patterns.

In the adult group (mean age at operation 25.5 ± 1.7 y.o.) of PTCs (36), we selected 26 oxyphilic cell tumors and 10 tall cell tumors to identify the nature of oxyphilia and detection the relations between the presence of BRAF mutations in adults PTCs and such pathomorphological features. 15 of 26 oxyphilic cell tumors and 8 of 10 tall cell tumors displayed positive staining for BRAF V600E indicative of mutBRAF overrepresentation in such tumors.

As a next step we plan to perform immunohistochemical staining for mutant BRAF using a larger set of thyroid cancer patients. Univariate and multivariate statistical analysis will be performed.

重 2-34

放射線誘発消化管腫瘍の発がん過程における病理組織学的解析

研究組織

共同研究代表者：森岡 孝満

(量研機構放射線医学総合研究所:主幹研究員)

受入研究代表者：笹谷 めぐみ

(広島大学原爆放射線医科学研究所:助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

原爆被爆者の疫学調査より、大腸は発がんリスクの高い臓器の1つとして周知されている。申請者は、先行研究で家族性大腸腺腫症のモデルマウスを用いて、幼若期の放射線被ばくにより特異的に消化管腫瘍の発生を認めることを確認している。本モデルは、低線量被ばく影響のリスク評価とその発がん機構解明に有用なモデルと言える。本研究は、自然発生と放射線誘発の消化管腫瘍を認めるマウスモデルを用いて、腫瘍の発生過程を病理組織学的および分子病理学的に解析し、放射線誘発消化管腫瘍の発がん機構解明を目的とした。

放射線特異的消化管腫瘍の発生が認められる系統の C3B6F1 Apc^{Min/+} マウスを用いて作製した放射線誘発消化管腫瘍と自然発症消化管腫瘍に関して、病理組織解析を行った。加えて、腫瘍病変部をマイクロダイセクションシステムを用いて採取し、LOH 解析の条件設定を行った。

病理組織解析より、放射線誘発消化管腫瘍は自然発症腫瘍に比較し悪性度が高いことが分かった。また、LOH 解析に用いるマイクロサテライトマーカーを数種類選定し、放射線誘発腫瘍と自然発症腫瘍の鑑別に向けた手法を構築した。今後、選定したプライマーを用いて解析を進める予定である。

発表論文

なし

重 2-35

ラット乳腺の放射線応答の年齢・線質による違い

研究組織

共同研究代表者：蒲地 雄大

(量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所放射線影響研究部:大学院課程研究員)

受入研究代表者：飯塚 大輔

(広島大学原爆放射線医科学研究所:助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

原爆被爆者や放射線治療関連二次がんの疫学調査から、若年期の放射線被ばくが女性乳がんのリスクを高めることが知られている。これまでに我々は、ヒトの乳がんと似た病理型を示すラットを用いて被ばく時年齢と線質の違いによって乳がん発症リスクが異なることを明らかにしてきた。しかしながら、なぜ被ばく時期や線質によって乳がん発症リスクが異なるかは明らかになっていない。そのメカニズムとして年齢や線質によって乳腺の DNA 損傷応答が異なり、それがリスクの違いに寄与している可能性がある。しかしながら、被ばく時年齢や線質による DNA 損傷応答の違いは明らかになっていない。本研究では、ラット乳腺を用いて放射線が誘発する DNA 損傷応答の違いを被ばく時年齢及び線質の観点から調べることを目的とした。思春期前または後（3 または 7 週齢）の Sprague-Dawley ラットに γ 線あるいは中性子線を照射し、照射 1 から 48 時間後までの乳腺組織の放射線初期応答を調べた。損傷応答に関わるタンパク質として γ -H2AX (DNA 二重鎖切断)、Ki-67 (細胞増殖)、p21 (細胞周期制御)、活性化型 caspase-3 (アポトーシス) の発現に着目し、免疫組織化学染色法で検討した。その結果、放射線初期応答に関わるタンパク質の発現は、被ばくする時期（思春期前後）や放射線の線質（ γ 線、中性子線）によって異なることが明らかになった。これらの結果は、年齢や線質で放射線誘発の DNA 損傷応答の機序が異なることを示唆している。今後は遺伝子発現マイクロアレイなどの網羅的解析によって、年齢や線質による放射線応答の違いを詳細に明らかにしていく。

発表論文

1. 高島 賢, 臺野 和広, 今岡 達彦, 森山 ひとみ, 蒲地 雄大, 西村 まゆみ, 柿沼 志津子, 福士 政

広，島田 義也：妊娠・出産経験が与える乳癌への影響 ～放射線リスクを交えて～，印刷中

重 2-36

放射線誘発がんにおけるエピゲノム異常の特異性に関する研究

研究組織

共同研究代表者：臺野 和広

（量研機構放射線医学総合研究所：主任研究員）

受入研究代表者：金井 昭教

（広島大学原爆放射線医科学研究所：助教）

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線防護において、発がんリスクは閾値なし直線仮説により評価されている。この仮説は、発がんにおける放射線の主要な作用が遺伝情報の変化以外にないことを前提としている。実際、発がんには、エピゲノム異常といった非遺伝子変異的機構が関与しているが、同機構の放射線誘発がんへの関与は十分理解されていない。また、がんはその進行に伴い不均一な細胞集団となるため、その正確な理解には、細胞個々の状態を把握することが不可欠である。本研究では、申請者らが動物実験により収集した放射線誘発がんを材料に、1～少数細胞といった超微量サンプルのゲノミクス解析技術を用いて、放射線誘発がんにおけるエピゲノム異常の特徴を明らかにすることを目的とする。

今年度は、放射線による発がんリスクの最も高い腫瘍の一つである乳がんを対象とし、放医研で収集しているラット乳がんの組織検体を材料とし、レーザーマイクロダイセクション法によるがん細胞の単離法、ゲノム DNA の抽出、及び次世代シーケンス用のサンプル調整の検討を行った。その結果、充実性のがん組織の場合、1 平方 mm、厚さ約 20 マ μm の凍結組織切片から、50 ng 以上の高品質二本鎖 DNA が抽出できることが分かった。また、メチル化 DNA 結合蛋白質（MBD）によって回収した微量メチル化 DNA（5～10 ng）から次世代シーケンス（MBD-seq）用のサンプルが調整できることを確認した。今後は、放射線誘発がんとは自然発症がんについて次世代シーケンス解析を行い、放射線誘発がんにおける DNA メチル化異常の特徴を明らかにする。

発表論文

なし

重 2-37

放射線誘発腫瘍に関連する DNA メチル化標的遺伝子の同定

研究組織

共同研究代表者：遠近 崇裕

(量研機構放射線医学総合研究所:実習生)

共同研究者：臺野 和広

(量研機構放射線医学総合研究所:主任研究員)

受入研究代表者：笹谷 めぐみ

(広島大学原爆放射線医科学研究所:助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線による発がんのリスク評価や、その予防・治療を開発するためには、発がんメカニズムを十分に理解する必要がある。近年、がんのゲノム網羅的解析から、紫外線や、いくつかの発がん性化学物質において、それら発がん要因への暴露を反映するゲノム変異パターンが存在することが示唆されている。また、実験動物により得られる腫瘍は、発がん影響を修飾する要因を排除できるため、発がん要因との関連性が明確である。本共同研究では、申請者らと笹谷博士らが動物実験により収集した腫瘍を用いて、放射線被ばくに特異的なエピゲノム異常をゲノム網羅的に同定し、ヒトにおける発がんの予防や診断に利用可能な情報を収集することを目的とする。

今年度は、申請者らが収集している放射線誘発マウス胸腺リンパ腫（16 検体）、及び化学発がん剤（N-ethyl-N-nitrosourea, ENU）誘発マウス胸腺リンパ腫（9 検体）から total RNA を抽出し、マイクロアレイによる遺伝子発現解析を行った。その結果、発現量に有意差が見られる遺伝子を 40 種見出した。遺伝子オンロジー解析を行った結果、これらの遺伝子には、免疫、細胞接着、細胞増殖に関わる遺伝子が多く含まれていたことから、放射線誘発リンパ腫と ENU 誘発リンパ腫では、免疫、細胞の接着や増殖といった性質の違いがあることが示唆された。今後は、他の検体における遺伝子発現異常の検証及び、DNA メチル化異常の解析を行い、放射線誘発腫瘍に関連する DNA メチル化標的遺伝子の特徴を明らかにする。

発表論文

なし

重 2-38

細胞質内での ATM 活性化機構解明とその修飾による放射線防護・放射線増感

研究組織

共同研究代表者：細井 義夫

(東北大学大学院医学系研究科:教授)

受入研究代表者：松浦 伸也

(広島大学原爆放射線医科学研究所:教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、ヒト培養血管内皮細胞を用いて、放射線被ばくにより血管障害/血栓が生じる機序の研究を行った。その結果、放射線照射により培養ヒト血管内皮細胞における ICAM-1 の発現が亢進し、一部の NSAIDs が放射線による ICAM-1 の発現をさらに増加させるという研究成果が得られた。

今後は、動脈硬化のモデルマウスである ApoE ノックアウトマウスを用いて in vivo においても一部の NSAIDs が放射線による動脈硬化のリスクを高めるかどうかを研究する予定である。

発表論文

Y Uehara, Y Murata, S Shiga, Y Hosoi, NSAIDs diclofenac, indomethacin, and meloxicam highly upregulate expression of ICAM-1 and COX-2 induced by X-irradiation in human endothelial cells. BBRC 479: 847-852, 2016.

重 2-39

がん遺伝子過剰発現と放射線照射による複製異常と全ゲノムレベルでの CNVs 変化の比較解析

研究組織

共同研究代表者：香崎 正宙

(産業医科大学：助教)

受入研究代表者：山内 基弘

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

がんを好発するロスミンド・トムソン症候群の関連遺伝子 RECQL4 を CRISPR-Cas9 技術を用いてノックインして詳細に機能解析した結果、放射線照射や抗がん剤シスプラチン処理後に、誤りがち修復経路の一つが活性化することが判明した。今回、この表現型がヒト細胞レベルからマウス個体レベルまで保存されている研究成果が得られた。

また、がん遺伝子をコンディショナルに過剰発現した際にも RECQL4 欠損細胞において矛盾の無い結果を得られており、がん遺伝子過剰発現から発がんに至る一つの重要な経路を示す研究成果が得られた。

今後は、これらの結果を掘り下げて、哺乳類での機能があまり分かっていない誤りがち修復経路の全容を解明するためのスクリーニングを行い、新規関連因子を同定する予定である。

発表論文

なし

重 2-40

Epigenetic study of glioblastoma tumorigenesis

研究組織

共同研究代表者：Yamei Niu

(Associate Professor, Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences)

受入研究代表者：Tao-Sheng Li

(Professor, Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University)

研究内容・研究成果・今後の展望等

Glioblastoma is one of the most lethal brain cancers all over the world. The prognosis of glioblastoma is very poor due to the highly resistance to radiation and chemotherapy. Although novel therapies are urgently needed to develop, the molecular architecture of glioblastoma remains largely unknown. This study is purposed to understand the molecular mechanisms associated with the radioresistance of glioblastoma, especially by focusing on the role of 5-hydroxymethylcytosine in the initiation and progression of glioblastoma.

DNA hydroxymethylation was found in glioblastoma and the global DNA modification levels were significantly associated with the prognosis of glioblastoma. However, the upstream regulators leading to abnormal DNA modifications are needed to be identified by further study. Otherwise, it is also asked to demonstrated the causally correlation between DNA hydroxymethylation and the radioresistance of glioblastoma by a series of intervention experiments.

発表論文

None

重2-41

脳腫瘍幹細胞の集団的特性に対する放射線照射の影響

研究組織

共同研究代表者：杉森 道也

(富山大学大学院医学薬学研究部：助教)

共同研究者：黒田 敏

(富山大学大学院医学薬学研究部：教授)

受入研究代表者：光武 範吏

(長崎大学原爆後障害医療研究所：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、定量生物学的アプローチを用いてグリオーマ幹細胞クローン毎に細胞数を定量し、集団としての維持・拡大過程を詳細に明らかにすることで、グリオーマ幹細胞の基本的機能を定量することを試みた。そこでは、グリオーマ幹細胞クローン集団が機能的に多様であり、クローンあたりの細胞数分布は“ベキ則”に従っていることを見出した。またその機能的多様性とベキ則は時空間を問わず再現された (Sugimori et al, 2015)。このグリオーマ幹細胞クローン集団の集団サイズを、PI3K, ERK, PKC などのリン酸化酵素阻害薬を用いて縮小させることを見出した (杉森投稿準備中)。また薬剤からの離脱と継代により幹細胞集団は増殖を促進させ、クローン出現頻度を減少させ多様性を失った。これらは放射線感受性の高まりを示唆した。

今後は、このグリオーマ幹細胞クローン集団の集団維持に対する放射線の影響を探索する。また放射線と化学療法を併用することで、“グリオーマ幹細胞集団のサイズコントロール”のパラダイムを確立し、グリオーマの再発・再燃コントロールに繋がりたいと考えている。

本研究に関して、平成 28 年 10 月 12 日長崎大学原研・永井隆記念研修室にて大学院セミナーを行った：「グリオーマ幹細胞の集団としての特性維持に関する新たなメカニズムの解明と薬理学的制御：Discovery of Power-Law Growth in the Self- Renewal of Heterogeneous Glioma Stem Cell Populations」。

発表論文

重2-43

HSP90 阻害剤によるがん放射線治療増強効果

研究組織

共同研究代表者：藤井 義大

(茨城県立医療大学：助教)

受入研究代表者：鈴木 啓司

(長崎大学原爆後障害医療研究所：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線は、非侵襲性の癌治療法として、最近特に注目を集めている。IMRT や重粒子治療等、装置面での飛躍的な進歩に基づく局所制御の高度化が目覚ましい中で、今後の問題として転移の制御が浮き彫りになっている。そこで、本共同研究では、放射線による癌治療効果を増強するために、HSP90 阻害剤を併用する新しいがん放射線治療増強法の確立をめざす。特に、HSP90 は分子シャペロンの 1 つで、多くのがん関連蛋白質の安定性に関わっている。このため、HSP90 阻害剤は複数の分子標的を同時に制御することが期待されるため、阻害剤により増強されるがん細胞死の経路の解明に焦点を当てて研究を進めた。

本年度は、培養ヒトがん細胞に放射線を照射し、照射前後で、HSP90 阻害剤を処理することにより、生存率がどれほど低減できるかを検討した。また、HSP90 阻害剤により誘導されるがん細胞死経路を解明するため、HSP90 阻害剤を処理したがん細胞において、アポトーシス、ネクローシスおよび老化様細胞死の誘導を検出した。

今後、HSP90 のがん幹細胞様細胞との関わりや浸潤・転移との関わりに関しても研究を進めていき、その分子機序を明かにしていきたい。最終的に、それらをまとめて論文を発表していきたいと考えている。

発表論文

本年度は、なし。

重2-44

原爆被爆者に発症する良性単クローン性免疫グロブリン血症の実態の解明

研究組織

共同研究代表者：對馬 秀樹

(長崎みなとメディカルセンター血液内科：医長)

共同研究者：松尾 真稔

(長崎みなとメディカルセンター血液内科：医長)

受入研究代表者：宮崎 泰司

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

受入研究者：佐藤 信也

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、長崎みなとメディカルセンターにおける原爆被爆者に発症した良性単クローン性免疫グロブリン血症(MGUS)の疫学調査を行うことで原爆被爆者のMGUS発症リスクの実態を更に明らかにすることが目的である。

今回はMGUSの診断に必須である形態診断をより正確に行うため、長崎大学病院血液内科、および、長崎みなとメディカルセンター血液内科が合同でスミアカンファレンスを開催し、10症例のMGUSについて診断の確認を行った。

今後は、長崎みなとメディカルセンターで発症するMGUSの前方視的調査体制を確立する。被爆者MGUSの比較対象として、非被爆者MGUSの臨床情報も併せて収集する。さらに、過去5年間の症例を調査し、被爆者および非被爆者MGUSの臨床的実態を明らかにする。具体的には以下を実施する。

- 1) 長崎みなとメディカルセンターでのMGUSの臨床情報を前方視的に収集し、データベース化する。
- 2) 同病院で過去5年間に診療した全MGUSの臨床情報を収集する。
- 3) 1) 2) で収集した症例の治療内容、発症に関わる要因、病型、治療成績、予後についての解析を行う。

発表論文

重2-45

放射線による甲状腺発癌プロモーション機構の解明

研究組織

共同研究代表者：藤本 成明

(広島大学原爆放射線医科学研究所：准教授)

受入研究代表者：中島 正洋

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

受入研究者：七條 和子

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

若年期の放射線暴露による甲状腺癌誘発過程においては、直接のDNA変異によるばかりでなく、被曝による甲状腺ホルモン系恒常性への障害も関与していることが示唆されてきた。本研究では、新生仔ラットを用い、X線照射の甲状腺ホルモン系への影響を解析した。

1週齢のWistarラット頸部への局所単回X線照射(6-12 Gy)を行い、8週齢時の甲状腺系への影響を解析した。X線照射により、一部の個体で甲状腺濾胞腔(コロイド)の萎縮がみられた。血中全T3、全T4値への影響は見られなかったものの、下垂体におけるTSH mRNAレベルは対照の2倍程度に増加していた。これらの結果は、新生仔期のラットの甲状腺ホルモン系がX線単回照射に対して高感受性であり、その影響が成熟後に及ぶことを示唆した。

今後、このX線照射で誘導される甲状腺ホルモン系への障害について、甲状腺組織の病理学的解析、血中の甲状腺ホルモン、甲状腺刺激ホルモン測定、下垂体-甲状腺軸の各組織の甲状腺ホルモン関連遺伝子群の発現定量を行うことで、若年期の放射線による甲状腺系への影響及び、その発癌への関与を解明する予定である。

発表論文

1. Fujimoto N, Kanno J, Increase in prostate stem cell antigen expression in prostatic hyperplasia induced by testosterone and 17 β -estradiol in C57BL mice, J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 158, 56-62, 2016.04.
2. Fujimoto N, Nitta Y, Endo S, Hoshi M, Changes in plasma triiodothyronine, thyroxine, and TSH after 131I irradiation of newborn rats fed with iodine deficient diet, Sci. Healthcare 18, 26-33, 2016.08.
3. Stepanenko V, Rakhypbekov T, Otani K, Endo S, Satoh K, Kawano N, Shichijo K, Nakashima M,

Takatsuji T, Sakaguchi A, Kato H, Onda Y, Fujimoto N, Toyoda S, Sato H, Dyussupov A, Chaizhunusova N, Sayakenov N, Uzbekov D, Saimova A, Shabdarbaeva D, Skakov M, Vurim A, Gnyrya V, Azimkhanov A, Kolbayenkov A, Zhumadilov K, Kairikhanova Y, Kaprin A, Galkin V, Ivanov S, Kolyzhenkov T, Petukhov A, Yaskova E, Belukha I, Khailov A, Skvortsov V, Ivannikov A, Akhmedova U, Bogacheva V, Hoshi M, Internal exposure to neutron-activated ^{56}Mn dioxide powder in Wistar rats: part 1: dosimetry, Radiat. Environ. Biophys. 56, 47-54, 2017.03.

4. Shichijo K, Fujimoto N, Uzbekov D, Kairikhanova Y, Saimova A, Chaizhunusova N, Sayakenov N, Shabdarbaeva D, Aukenov N, Azimkhanov A, Kolbayenkov A, Mussazhanova Z, Niino D, Nakashima M, Zhumadilov K, Stepanenko V, Tomonaga M, Rakhypbekov T, Hoshi M, Internal exposure to neutron-activated ^{56}Mn dioxide powder in Wistar rats-Part 2: pathological effects, Radiat. Environ. Biophys. 56, 55-61, 2017.03.
5. Matsubara K, Nakamura N, Sanoh S, Ohta S, Kitamura S, Uramaru N, Miyagawa S, Iguchi T, Fujimoto N, Altered expression of the Olr59, Ethel1, and Slc10a2 genes in the liver of F344 rats by neonatal thyroid hormone disruption. J Appl Toxicol. *In press*.

重 2-46

重粒子線の骨代謝におよぼす影響

研究組織

代 表 者：澤尻 昌彦

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院：助教)

共同研究者：野村 雄二

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院：助教)

共同研究者：Preeyaporn Srimawong

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院：大学院生)

受入研究者：松浦 伸也

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究の目的は、骨代謝への重粒子線の影響を明らかにし、腫瘍の骨浸潤と骨転移の予防策について検討することである。放射線医学総合研究所において乳がん細胞に重粒子線を照射し、対照群としてガンマ線照射装置による細胞照射を行い、放射線照射による乳がんの骨転移、浸潤に係わる細胞応答を調査した。

がん細胞の転移生着に Periostin が重要な役割を果たすことが予測されたために照射後の乳がん細胞における Periostin の mRNA とタンパクの発現を経時的に計測した。非照射細胞に比べ照射細胞では有意に Periostin が増加することが認められた。とりわけガンマ線照射において顕著であった。照射後、乳がん細胞と非照射骨芽細胞の共存培養では骨吸収、骨転移、骨代謝因子の骨芽細胞における発現に差違が見られた。Periostin の増加に伴って MC3T3-E1 の産生する骨吸収因子 RANKL と VEGF の産生が増加した。MC3T3-E1 培地に Recombinant Periostin を添加したところ、RANKL、VEGF 産生が増加し、さらに siRNA により Periostin の発現を抑制した場合には MC3T3-E1 の RANKL と VEGF が減少した。

また、放射線照射後の乳がん細胞をマウスに移植したところ骨破壊が認められた。周囲骨における骨代謝因子を調べ、骨浸潤に与える放射線の効果を調査した。組織学的にはがん組織における Periostin の局在と破骨細胞による骨破壊像が確認され、特に炭素線照射細胞を移植したマウスではがん組織に近接する部位に活発な骨芽細胞と不正な骨の形成を認めた。

以上から Periostin の過剰で骨芽細胞の産生する RANKL と VEGF の発現が増強して骨破壊が亢進する可能性が示され、各種骨代謝マーカーの発現レベルが変動したことから線質の異なる放射線照射が Periostin の発現を

介して骨芽細胞の代謝に影響を与え、骨の増生と吸収の平衡が崩れた可能性が推論される。今後、他の骨代謝マーカーの発現を解析する予定である。

発表論文

Srimawong P., Sawajiri M., Terato H., Maruyama K., Tanimoto K., Effects of carbon ion irradiation via periostin on breast cancer cell invasion of the microenvironment. Journal of Radiology and Radiation Therapy 4,(1), 1060-, 2016

重2-47

ヒトがんにおける発がん機序と悪性度規定因子の解明

研究組織

共同研究代表者：檜山 英三

(広大自然科学研究支援開発センター：教授)

共同研究者：外丸 祐介

(広大自然科学研究支援開発センター：教授)

深澤 賢宏

(広大自然科学研究支援開発センター：研究員)

山岡 絵美

(広大自然科学研究支援開発センター：研究員)

上田 祐華

(広島大学病院・小児外科：助教)

栗原 将

(広島大学病院・小児外科：医科研修医)

受入研究代表者：谷本 圭司

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、ヒトにおける小児がん、成人がんの臨床検体、それら由来の細胞株、さらに前がん病変を用いて、これらの発癌とさらに悪性度を左右する因子、左右する変異を検討した。とくに、術前担癌状態での血清中の遊離 DNA を用いた遺伝子異常の解析などを行い、また、発癌および悪性度規定因子の検討から、診断および治療の分子標的を探索し、あらたな治療戦略を構築に反映させることを試みた。

主に、共同研究では、網羅的遺伝子解析、遺伝子変異解析について次世代シーケンサーを用いて解析し、分子標的の抽出を試みた。特に、本年度は、次世代シーケンサーによるがん特異的遺伝子パネルシーケンスを継続して行った。

その結果、成人腫瘍では膵がんで、小児固形腫瘍の中で肝芽腫などの腫瘍の遺伝子変異を腫瘍細胞のみならず、血漿中の遊離 DNA を用いて検出可能であった。

今後はさらに肺癌などの症例についても検索する予定である。

発表論文

Hadano N, Murakami Y, Uemura K, Hashimoto Y, Kondo N, Nakagawa N, Sueda T, Hiyama E. Prognostic value of circulating tumour DNA in patients undergoing curative resection for pancreatic cancer. British Journal

of Cancer. 2016 Jun 28;115(1): 59-65. doi: 10.1038/bjc.2016.175.

重 3-1

造血幹細胞におけるメチル化ヒストン結合蛋白質 Hemp の機能解析

研究組織

共同研究代表者：田久保 圭誉

(国立国際医療研究センター研究所：生体恒常性プロジェクト部長)

共同研究者：小林 央

(国立国際医療研究センター研究所：生体恒常性プロジェクト上級研究員)

受入研究代表者：本田 浩章

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

研究内容

Hemp は造血幹細胞特異的 cDNA ライブラリーから単離された遺伝子である。我々は Hemp のノックアウトマウスを作製し解析することにより、Hemp は造血幹細胞活性と骨形成に必須の役割を有することを明らかとした。しかし、Hemp ノックアウトマウスは生後すぐに死亡するためその成体造血機能における役割は未だに不明のままである。この申請では、Hemp のコンディショナルノックアウトマウスを作製することにより、成体造血機構における Hemp の役割を解析することを目的とする。

研究成果

成体において後天性に造血系を中心に Hemp を欠失したところ、マウスの末梢血数に変化を認めなかった。しかし、造血幹細胞移植を行なったところ、コントロールマウスに比較して造血再構築能が低下していることが明らかとなり、Hemp は造血幹細胞の長期維持に関与していることが明らかとなった。さらに、造血幹細胞で発現している遺伝子の発現解析を行なったところ、いくつかの遺伝子について発現低下を認めた。

今後の展望

どのような機序で Hemp 欠失造血幹細胞が造血再構築能低下を呈するかについて、トランスクリプトームその他の解析手法を用いてその分子機構の解析を行なう。得られた結果は、造血幹細胞の制御機構に新たな知見をもたらすことが出来ると期待される。

発表論文

なし

重 3-2

siRNA ライブラリーを用いた再発小細胞肺癌の治療標的の探索

研究組織

共同研究代表者：坂本 修一

((公財) 微生物化学研究会:主任研究員)

受入研究代表者：河合 秀彦

(広島大学原爆放射線医科学研究所:助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

小細胞肺癌は、初回治療時には放射線や化学療法剤が著効を示すが、その後殆どの症例で再発・転移し治療抵抗性となるため非常に予後が悪い。しかし、再発時の治療抵抗性獲得や、遠隔転移能のメカニズムは不明な点が多く、治療法開発の妨げになっている。共同研究代表者らは、再発患者由来のヒト小細胞肺癌細胞株 DMS273 を用い、ヌードマウス肺への同所移植により遠隔転移巣を形成させる自然転移モデルを独自に開発した (Sakamoto *et al.* Cancer Science 2015)。さらに、本モデルを用いた *in vivo* 選択法により、足場非依存性増殖能ならびに転移能が亢進した高転移性亜株を樹立した。本課題では、この高転移性亜株の悪性化に寄与する因子を、ゲノムワイド siRNA ライブラリーによる探索を行った。

本年度は引き続き、ハイコンテンツイメージングシステムを利用し、高転移性亜株の細胞増殖能及び細胞形態に影響する siRNA をスクリーニングした。クロマチン関連遺伝子群など約 600 種の siRNA をスクリーニングしたところ、高転移性亜株の細胞増殖能及び細胞形態に影響する因子として昨年度見出した癌関連転写因子の転写活性化機構に関与するクロマチン制御因子が複数ヒットした。したがって、本スクリーニングにより癌関連転写因子の活性を修飾する因子の探索が可能と考えられた。

発表論文

なし

重 3-3

The impact of radiation on cardiac mesenchymal stem cell derived exosomes

研究組織

共同研究代表者：Yaoliang Tang

(Associate Professor, Medical College of Georgia, Augusta University)

受入研究代表者：Tao-Sheng Li

(Professor, Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University)

研究内容・研究成果・今後の展望等

Cardiac mesenchymal stem cells (C-MSC) are effective in preserving left ventricular (LV) function after myocardial infarction (MI), and paracrine effect is the major mechanism for C-MSC mediated heart repair. Exosome has been approved as the main component of paracrine factors, however, the impact of radiation on C-MSC derived exosomes is not been reported. We have isolated C-MSC from C57/Bl6 mice heart, and will treat these cells with radiation, and we will determine the impact of radiation on CPC function in exosome release, and effect of radiation on exosome function in protecting cardiomyocyte from oxidative stress. We anticipate moderate radiation stimulation will stimulate exosome release from C-MSC, and the radiation might compromise the cardioprotective effect of C-MSC derived exosomes.

発表論文

None

重 3-4

セファランチンによる間葉系幹細胞を介した放射線照射後の血球回復促進

研究組織

共同研究代表者：藤井 紀恵

(京都大学大学院医学研究科血液・腫瘍内科学:大学院生)

共同研究者：三浦 康生

(京都大学医学部附属病院輸血細胞治療部:助教)

：杉野 典子

(京都大学大学院医学研究科血液・腫瘍内科学:客員研究員)

：前川 平

(京都大学医学部附属病院輸血細胞治療部:教授)

：高折 晃史

(京都大学大学院医学研究科血液・腫瘍内科学:教授)

受入研究代表者：一戸 辰夫

(広島大学原爆放射線医科学研究所:教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

セファランチン (CEP) による白血球及び血小板増加効果は臨床的に知られているが、その作用機序は不明である。本研究は、CEP によるこれら造血促進効果が骨髓間葉系幹細胞 (BM-MSC) を介することを明らかにした。CEP は造血幹前駆細胞 (HSPC) に対して直接的には増殖を阻害した。一方、CEP で BM-MSC に薬物刺激を加えた後に HSPC と共培養すると、HSPC の増殖と分化が促進された。フローサイトメトリー法を用いた解析では、巨核球への分化が促進されていた。マイクロアレイ法を用いた網羅的遺伝子発現解析により、CEP 刺激した BM-MSC において巨核球分化に関わるサイトカインと好中球遊走に関わるケモカインの遺伝子発現の上昇を認めた。今後はさらに CEP 刺激 BM-MSC における遺伝子発現解析を進めるとともに、放射線照射後の BM-MSC に対する CEP の効果についても検討する予定である。

発表論文

なし

重 3-5

Development of methods for complex and mobile screening studies of microcirculation vessels and sensory sensitivity of visual system of the population living in the radiation polluted areas

Research Organization:

Representative Joint Researcher: A.KUBARKO
(Professor: Human Physiology Department, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus)

Joint Researcher: V. FIRAGO (Associate Professor: Department of Quantum Radiophysics and Optoelectronics, Belarusian State University, Minsk, Belarus), S. LISENKO (Associate Professor: Department of Quantum radiophysics and Optoelectronics, Belarusian State University, Minsk, Belarus), I. STETSKO (Head of Data-Measuring Systems Laboratory: Department of Informatics and Computer Systems, Belarusian State University, Minsk), A.ANISIMOV (Postgraduate Student: Human Physiology Department, Belarusian Medical University, Minsk, Belarus)

Representative Resident Researcher: N. HAYASHIDA
(Professor: Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University, Japan)

Resident Researcher: J.TAKAHASHI (Assistant Professor: Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University, Japan)

Contents, Results, and Prospects of Study

In this study following results were achieved:
A device for bio microscopy of bulbar conjunctiva vessels with a resolution 2μ for 1 pixel was developed.

Following methods were developed: Registration of backscattering spectra; Software for morphological; parameters of microvessels, linear and volume velocity of blood flow analysis; Software for the evaluation of the content of oxidized and reduced hemoglobin of blood; Software for measuring thresholds of contrast-color sensitivity of vision

Preliminary results of measurements in healthy people aged 18-20 years are obtained. The developed devices are mobile; the methods of investigation are not invasive, quickly feasible and in the future can be used for

screening studies.

Presented paper

- 1) S.A. LISENKO, V.A.Firago, A.I.Kubarko, M.M.Kugeiko
Methods and software and hardware for studying
the blood vessels and tissues of the human eye //
Reports of BSUIR.-2016.- № 7 (101) .- P.52-56.
- 2) V.A. Firago, A.A. Anisimov, I.I. Volkova Obtaining and
processing of digital images of vessels of the sclera of
the eye // Reports of BSUIR.-2016.-№7 (101) .- P.209-216
- 3) Currently a joint article with Professor N. Hayashida
is prepared to print.

重3-6

福島県脳卒中発症調査における電子カルテ データの自然言語処理によるスクリーニン グに関する研究

研究組織

共同研究代表者：荒牧 英治

(奈良先端科学技術大学院大学ソーシャル・
コンピューティング研究室：特任准教授)

共同研究者：若宮 翔子

(奈良先端科学技術大学院大学ソーシャル・
コンピューティング研究室：博士研究員)

中野 裕紀

(放射線医学県民健康管理センター健康調
査支援部門疫学室・医学部疫学講座：助手)

弓屋 結

(放射線医学県民健康管理センター健康
調査支援部門疫学室：助手)

受入研究代表者：大平 哲也

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

受入研究者：齋藤 清

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

佐久間 潤

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

福島県立医科大学では県からの委託により「県民健康調査」を放射線医学県民健康管理センターにて実施している。避難住民においては高血圧、糖代謝異常、脂質代謝異常等の有所見率が有意に増加しており、今後は脳卒中の増加が考えられる。脳卒中の発症動向を明らかにするためには、県民健康調査データと死亡小票、病院調査による採録データ、レセプトデータなどと突合させることが必要である。本研究の目的は、電子カルテ等から抽出したテキスト及びXMLデータを自然言語処理により、発症登録に必要な脳卒中発症登録データセットに自動的に取り込むことで、発症登録の作業の効率化をはかり、登録データの精度を高めることを目的とした。

電子カルテデータは、二次利用可能な品質になっておらず、病院調査時の採録では、電子カルテを目視で追い、必要な情報を集めるという煩雑な作業が発生している。本研究では、①福島県立医科大学附属病院から提供された登録対象患者リストを元に患者IDに紐づく電子カルテデータ

の自然言語処理を行う。②治療、検査、病名、検査結果値などなどの抽出を行い、脳卒中発症登録データセットへの自動取り込みを行う。③取り込まれたデータを元に発症登録の対象か除外かの振り分けを行う。④人手により採録された登録データと、自然言語処理により処理され自動取り込みされた登録データとの間での比較を行うことで、登録データの精度の検証を行う。

電子カルテデータを自然言語処理で抽出し、脳卒中発症登録データセットに自動取り込みを行うことで、①人手による目視による電子カルテ確認作業が軽減。②発症登録に係る時間の大幅な短縮。③登録データの精度の向上。④人手による採録と、自動取り込みとでデータ比較による精度担保。本研究は当初は福島県立医科大学付属病院から取り組み始めるが、県下協力医療機関からも電子カルテ情報の提供を受け、同様の手順で登録作業を実施することができれば、協力医療機関の負担の軽減にも寄与でき、悉皆調査を目指す上で大きなツールとなることが期待できる。

本研究では、自然言語処理を用いた研究についての必要なデータ及び、サンプル数についての打合せを行った。引き続き、医科大学において脳卒中発症登録のための採録を行い、データクリーニングを行い、脳神経外科、循環器内科、神経内科の専門医が判定を行った。自然言語処理には、適正に記録されたテキストデータと人間が判定した正しい解が必要となる。研究計画では、医大病院以外の採録作業を進め、テキストデータと正しい解のサンプルを一定数準備する必要がある。しかしながら、医療機関ごとにデータ内容や項目について、バラつきがあり、現状のままで自然言語処理を行っても正確な学習及び正答を導くことができない可能性があることが明らかとなった。このため、引き続き、医療機関において採録サンプル数を確保する作業を進めている。また、現在のところ医大病院以外で電子カルテを導入している医療機関での採録が進んでおらず、この点についても各医療機関と協力しながら作業を進めたいと考える。

本研究で明らかになった内容については、共同研究者である中野裕紀がITヘルスケア学会学術大会（平成29年5月・名古屋・口頭発表）日本医療情報学会春季学術大会（平成29年6月・福井・示説明）、で発表を行った。

発表論文

重4-1

電離放射線が間葉系幹細胞の組織修復能・免疫造血制御能に与える影響の検討

研究組織

共同研究代表者：三浦 康生

（京都大学医学部附属病院輸血細胞治療部：助教）

共同研究者：岩佐 磨佐紀

（京都大学医学部附属病院輸血細胞治療部：特別研究学生）

藤城 綾

（京都大学医学部附属病院輸血細胞治療部：特別研究学生）

藤井 紀恵

（京都大学大学院医学研究科血液・腫瘍内科：大学院生）

杉野 典子

（京都大学大学院医学研究科血液・腫瘍内科：研修員）

受入研究代表者：一戸 辰夫

（広島大学原爆放射線医科学研究所：教授）

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究では、2 Gy を越える放射線照射がヒト骨髄間葉系幹細胞（bone marrow mesenchymal stromal/stem cell, 以下 BM-MSC）の機能低下を長期にもたらす可能性を明らかにした。2, 4 および 12 Gy の γ 線照射 28 日後の BM-MSC の脂肪・軟骨分化は線量依存的に抑制された。骨分化に関しては、12 Gy 照射で Runx2 の発現低下と Osteocalcin の発現上昇が認められた。これは BM-MSC の幹細胞性の喪失と強い骨分化の結果と考えられ、最終的には不可逆的な骨形成低下を来すと考えられた。BM-MSC の幹細胞性喪失は、CFU-F アッセイで評価した γ 線照射骨髄単核球のコロニー形成能低下によっても支持された。 γ 線照射 BM-MSC の増幅は線量依存的に低下した。また、 γ 線照射 BM-MSC と CD34 陽性幹前駆細胞（HSPC）の共培養を行ったところ、HSPC 増幅と顆粒球系細胞分化には影響はないが、B 細胞分化は 2 Gy 以上の線量で強く抑制された。HSPC の維持・生存や B 細胞分化に重要なサイトカインの BM-MSC における発現は γ 線照射で長期に抑制されるが、2 Gy でのみ照射後に回復を認めた。BM-MSC 増幅能に対するフリーラジカルスカベンジャーによる保護効果も 2 Gy でのみ認めた。今後も引き続き、電離放射線が MSC に与える影響について研究を展開する計画である。

発表論文

1. Yoshioka S, Miura Y (2016) Human Mesenchymal

Stem Cell Therapy for Acute Graft Versus Host Disease. Transl Med 6: 171. doi: 10.4172/2161-1025.1000171

重 4-2

循環器疾患における再生医療に関する研究

研究組織

共同研究代表者：梶川 正人

(広島大学病院未来医療センター：助教)

受入研究代表者：東 幸仁

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

緊急被ばく医療における循環器再生医療に関連する再生医療の研究はない。また、循環器疾患においては、通常のカテーテル治療においても治療を反復することにより不可逆性の皮膚潰瘍を生じる症例が散見される。放射線障害による難治性潰瘍に関しては治療法が確立されておらず、通常の治療法では改善が見込めないことが多い。当該研究では、細胞を用いた放射線障害による難治性潰瘍に治療法の確立、さらには、緊急被ばく医療における循環器再生医療の構築を目指したものである。本年度は、循環器再生医療にもちいる被ばく動物モデルの作製を行った。今後は、同モデルを用いて再生実験を実施する予定である。

発表論文

なし

重 4-3

microRNA を含むエクソソームを用いた組織再生治療の試み

研究組織

共同研究代表者：安達 伸生

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科 整形外科:教授)

共同研究者：味八木 茂

(広島大学病院 未来医療センター:講師)

亀井 直輔

(広島大学病院 未来医療センター:講師)

石川 正和

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科 整形外科:助教)

中佐 智幸

(広島大学病院 整形外科:助教)

宮田 多佳子

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科 整形外科:技術職員)

植田 江里

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科 整形外科:技術職員)

池田 亜子

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科 整形外科:技術職員)

受入研究代表者：東 幸仁

(広島大学原爆放射線医科学研究所:教授)

研究内容

運動器損傷などによる間葉系幹細胞 (MSC) のような幹細胞移植治療は、目的細胞への分化というよりも幹細胞から放出されるサイトカインなどの液性因子による効果が大きいと考えられている。そこで細胞より分泌する微小胞 (30 ~ 200nm) であるエクソソームは、miRNA などを含む新たな細胞間コミュニケーション因子として注目されている。microRNA (miRNA) を含むエクソソームは血管形成や細胞分化の促進を介して運動器の組織再生・修復を促進するという仮説のもとヒト間葉系幹細胞より分泌するエクソソームの運動器組織再生・修復促進効果を明らかにすることを本研究の目的とする。

研究成果

エクソソームの構成分子である CD9 のノックアウトマウスは、骨折モデルにおいて野生型マウスに比べ骨折治癒が遅延していた。この遅延は、間葉系幹細胞由来エクソソームの骨折部位への投与により回復した。また、野生型のマウスへの MSC エクソソームは、骨折治癒を促進したが、骨肉腫由来細胞株 (HOS) 由来エクソソームでは、このような骨折治癒の促進効果は見られなかった。この MSC

エクソソーム内には、これまで骨折治癒への関連が知られているサイトカインが低濃度であったことから、その他の分子の関与が考えられ、MSC と HOS のエクソソーム内の miRNA のプロファイルが異なることから、miRNA の関与を示唆した。本研究は、間葉系幹細胞由来エクソソームが、骨折治癒を促進することを明らかにし、エクソソームによる新たな組織再生機構を示した。

今後の展望等

今後さらに MSC エクソソームの質を評価できるためのマーカーとして MSC エクソソーム表面の糖鎖解析を行い、治療効果の高いエクソソームの評価およびその糖鎖を用いたエクソソームの単離システムの開発を目指す。また、エクソソーム内の分子を解析することで、MSC エクソソームによる組織再生機構を明らかにしていく。

発表論文

Furuta T, Miyaki S, Ishitobi H, Ogura T, Kato Y, Kamei N, Miyado K, Higashi Y, Ochi M. Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote fracture healing in a mouse model. *Stem Cells Transl Med.* 5(12): 1620-1630, 2016.

重 4-4

心筋細胞機能解析に関する研究

研究組織

共同研究代表者：高橋 将文

(自治医科大学分子病態治療研究センター 炎症・免疫研究部：教授)

受入研究代表者：東 幸仁

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

心筋の放射線による障害は、放射線による乳がん治療後の症例の解析から明らかになっている。しかし、放射線による致死的な障害となる心筋障害に対する治療法は未だ確立されてない。そこで本研究では、放射線による高度の心筋障害に対する新しい細胞療法の確立を目指す上で、心臓の構成上非常に重要な心筋細胞の機能解析を行っている。また、心筋再生のために iPS 細胞や間葉系幹細胞を用いた研究を進めている。本研究を進めることは、緊急被ばく医療における心臓領域での細胞治療の開発につながる。

発表論文

なし。

重 4-5

血管内皮細胞機能解析に関する研究

研究組織

共同研究代表者：田口 明

(松本歯科大学大学院歯学独立研究科 硬組織疾患制御再建学講座 臨床病態評価学：教授)

受入研究代表者：東 幸仁

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線は、造血器に留まらず全身のすべての臓器に広汎な障害をもたらす。放射線による障害のひとつとして血管障害が知られているが、その治療法は未だ確立されていない。そこで、本研究では、放射線による高度の血管障害に対する骨髄単核球細胞、間葉系幹細胞、脂肪組織由来幹細胞などを用いた新しい細胞療法の確立を目指す上で、血管の構成上非常に重要な血管内皮細胞の機能解析を行う。このために、現在血管内皮細胞の放射線感受性の解析を進めている。本年度は、放射線照射による間葉系幹細胞での、血管再生関連因子の解析を行っている。本研究を、緊急被ばく医療における血管領域での細胞治療の開発につなげたい。

重 4-6

ストレス環境下における幹細胞の DNA 損傷応答機構の解明

研究組織

共同研究代表者：弓削 類

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科：教授)

共同研究者：猪村 剛史

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科：助教)

中川 慧

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科：助教)

河原 裕美

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科：研究院)

大塚 貴志

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科：大学院生)

受入研究代表者：谷本 圭司

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究では、重力環境の違いや培養酸素環境の違いなどのストレス環境下における未分化細胞の特性について研究を行った。その結果、微小重力環境で培養することで幹細胞の未分化性が維持され、その要因として細胞が重力を感知するセンサーとして知られる focal contact の発現が減少する可能性が示された。また、エピジェネティクスな制御として知られる DNA のメチル化・脱メチル化状態の違いも、幹細胞の特性に重力が与える影響の要因となることが示された。さらに、幹細胞を低酸素環境で培養することで、疾患モデルへの移植効果が高まるなどの研究成果も得られた。

今後は、得られた現象に関わる分子機構について詳細に検討するとともに、DNA 損傷応答機構の解明を行っていききたい。

発表論文

1. Imura T., Tomiyasu M., Otsuru N., Nakagawa K., Otsuka T., Takahashi S., Takeda M., Shrestha L., Kawahara Y., Fukazawa T., Sueda T., Tanimoto K., Yuge L.: Hypoxic preconditioning increases the neuroprotective effects of mesenchymal stem cells in a rat model of spinal cord injury. J Stem Cell Res Ther, 2017

重 4-7

神経細胞機能解析に関する研究

研究組織

共同研究代表者：後藤 力

(広島国際大学総合リハビリテーション

学部 リハビリテーション学科：准教授)

受入研究代表者：東 幸仁

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

原爆被爆者では、血管障害が発生する可能性が指摘されている。また、がん治療による中枢神経の放射線治療後も、さまざまな血管障害が発生することが報告されている。しかし、放射線による血管障害について治療法は未だない。そこで、本研究では、血管再生上非常に重要な各種神経前駆細胞の機能解析や放射線感受性の解析を進めている。血管内皮前駆細胞への酸化ストレス負荷による血管再生関連因子の発現を検討した。

発表論文

なし

重 4-8

被曝再生医療にむけた腸上皮幹細胞の iPS 細胞からの分化誘導法の確立

研究組織

共同研究代表者：横内 裕二

(福島県立医科大学 多能性幹細胞研究講座：教授)

共同研究者：野口 知水

(福島県立医科大学 多能性幹細胞研究講座：研究員)

受入研究代表者：高木 基樹

(福島県立医科大学 ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

【研究内容】

人体組織の維持・修復に必須な組織幹細胞群は増殖能が高いため、放射線被曝による影響を受けやすい。特に腸上皮幹細胞における被曝の影響は早期に観察される。その治療法としては損傷を受けた腸幹細胞を補填する幹細胞移植法が有効であるが未だ実用化されていない。その理由は被曝時の緊急細胞移植治療に利用できる細胞リソースが存在しないからである。そこで本研究では、将来の放射線災害用細胞バンクの構築に備えて、iPS 細胞からの腸上皮幹細胞の分化誘導法を開発することを目的とする。

【研究成果】

本年度は、正常ヒト iPS 細胞 (201B7) より 2 種類の分化培地 DE Medium と MHG Medium で連続培養し中・後腸内胚葉細胞を分化誘導する実験を実施した。先行論文に基づいて合成培地を自作し分化誘導実験を実施したところ、期待通り CDX2 陽性の中・後腸内胚葉細胞を分化誘導することに成功した。

【今後の展望】

最終的に、iPS 細胞から腸上皮幹細胞の分化誘導法を確立するために、以下の手順でそのプロトコルを確立する。(1)腸上皮幹細胞の細胞表面マーカーである Lgr5 遺伝子座に EGFP cDNA をノックインした遺伝子組換えマウスの皮膚繊維芽細胞よりウイルスベクター法により iPS 細胞を樹立する。(2)中・後腸内胚葉細胞に様々な化合物を投与することで腸上皮幹細胞を分化誘導できる条件を検討する。その際、Lgr5 遺伝子座にノックインした GFP を指標とし Operetta によるスクリーニングを実施する。

発表論文

該当無し。

重 4-9

急性放射線障害に対するヒト胎盤由来間葉細胞治療の非臨床有効性検証研究

研究組織

共同研究代表者：原 孝光

(福島県立医科大学 先端臨床研究センター：准教授)

共同研究者：稲野 彰洋

(福島県立医科大学 治験センター：准教授)

鈴木 義行

(福島県立医科大学 放射線腫瘍学講座：教授)

織内 昇

(福島県立医科大学 先端臨床研究センター：教授)

受入研究代表者：工藤 崇

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

福島県立医科大学は被ばく医療ならびに RI 内照射療法の国内最大拠点としての準備を進めている。新たな原発事故や廃炉作業員の被ばく事故などに備え、急性放射線障害 (ARS) に対する治療手段の充実は欠かせない。急性放射線障害の対症療法の一つとして間葉細胞移植が期待されているが、実用化には至っていない。今般、ヒト胎盤系間葉細胞による急性放射線障害の治療レジメの有効性を非臨床試験で確立 (proof of principle) することを計画した。本研究では、急性放射線障害でも重要な腸管毒性に対する間葉細胞移植の効果・安全性について、マウスモデルを用い非臨床的に検証をおこなった。初めに C57BL6J マウスにおける全身照射時の腸管死の LD50 (10) の線量がいくらになるかを求めた。我々の実験系では 10Gy であった。この事により、本研究の成果として全身被曝時に集団の半数が 10 日以内に腸管死で死ぬ動物モデルが作成できた。次にヒト胎盤由来間葉細胞 (PLX-R18) を用いて LD50 (10) の線量を照射したときの腸管死に与える影響を調べたが、現在のプロトコルでは有意な差は見られなかった。

今後は、PLX-R18 を投与する量、タイミング等の条件検討を行い、PLX-R18 が腸管死に影響を与えるのか更なる検討を行っていく予定である。

発表論文

特になし

重 5-1

モデル動物を用いた放射線と関連する循環器疾患の研究

研究組織

共同研究代表者：高橋 規郎

(放射線影響研究所：顧問)

共同研究者：村上 秀子

(放射線影響研究所・分子生物科学部：来所研究員)

受入研究代表者：稲葉 俊哉

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

受入研究者：長町 安希子

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

笹谷 めぐみ

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線被曝者の集団で循環器疾患の頻度が上昇しているという報告を、我々はモデル動物を用いて検証している。モデル動物（易脳卒中発症性高血圧自然発症ラット；SHRSP）に放射線（0.25～4Gy）を一括照射した実験では、0.25Gy 照射群でも非照射群に比べて脳卒中発症時期の亢進が認められた。今回、更に低い線量（0.1Gy）を一括照射した場合を検証したところ、0.1Gy においても発症時期は有意に亢進していた。今後は、更に低い線量（0.05Gy など）において、どのような結果が得られるか？興味深いところである。

また、線量率の変化に伴う循環器疾患のリスクの変化を観る目的で低線量率（0.1Gy/日以下）放射線を照射した SHRSP を用いる実験を現在行っている。この結果より、循環器疾患に対する線量率効果の推定が初めて可能となることが期待される。

上記の結果は、福島原発の事故により低線量放射線または低線量率放射線に長期間被曝した住民への福祉行政の一助となるかもしれない。

発表論文

なし

重 5-2

被爆建物設計資料の社会医学的研究への応用可能性の検討

研究組織

共同研究代表者：佐藤 裕哉

(下関市立大学経済学部：准教授)

共同研究者：嘉陽 礼文

(広島大学教育・国際室 国際交流グループ：研究員)

受入研究代表者：瀧原 義宏

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

受入研究者：杉原 清香

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、原医研に所蔵されている被爆建物の設計資料などが社会医学的研究へ応用可能かどうかを検討したものである。具体的には、1) 被爆建物の設計図、写真資料、地図資料、物理資料を用いて、大型の被爆建物のいくつかをデジタル地図上に立体的に復元し、地理情報システム（GIS）の見通し解析機能によって放射線の遮蔽状況の解析すること、2) 原爆被爆者データベース（ABS）を用いて、1) の遮蔽状況別に死因に差異がないかを分析すること、の2点を目指した。

まずは、資料箱2箱の資料を確認し、概要を把握した。そのなかから、AFIP 返還資料に被爆前の写真がある「広島市役所」と「広島貯金局」を対象を絞ることにした。そして、それらの図面をスキャニングした。次に、それらの図面をもとに地理情報システム（GIS）で対象とする建物の平面位置、高さのデータを作成した。しかしながら、立体の細かい部分が再現できなかった。特に窓などの開口部の処理が難しいことが明らかとなった。そのため、遮蔽の分析、ABS の死因情報との照合については十分に行うことができなかった。なお、資料の概要を確認したところ建物の立体図や高さに関するデータが少ないことが明らかとなった。そこで、それぞれの建物について、どのような情報（平面図、立体図、開口部、AFIP 返還写真の有無など）があるのかをデータベース化することにより後の利用がしやすくなると考えられる。これらの点については次年度以降の課題としたい。

発表論文

なし

重 5-3

脳虚血に伴うストレス応答物質の解析

研究組織

共同研究代表者：酒井 規雄

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科：教授)

共同研究者：田中 茂

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科：講師)

白藤 俊彦

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科：助教)

秀 和泉

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科：助教)

荊尾 一草

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科：大学院)

浅野 昌也

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科：大学院)

白柳 紘子

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科：大学院)

嶋田 直人

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科：大学院)

村川 青矢

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科：大学院)

受入研究代表者：田代 聡

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

脳梗塞では血管閉塞後に、様々なストレス応答現象が観察される。この共同研究では低酸素や酸化ストレスに対する神経細胞や各種免疫細胞応答を、遺伝子・蛋白発現解析により解明することを本共同研究の目的としている。今年度の研究では、小胞体（ER）ストレスを惹起させる性質を持つセロトニントランスポーター変異体を用いた ER ストレス緩和薬の探索方法を原医研が所有するハイコンテント顕微鏡を用いて開発することができた。今後も原医研が所有するイメージング機器を共同研究として活用して、脳虚血に伴うストレス下での分子や、神経機能の発揮に関与する分子の動態について、明らかにしていきたい。

発表論文

Fujii, H., Takahashi, T., Mukai, T., Tanaka, S., Hosomi, N., Maruyama, H., Sakai, N., and Matsumoto, M. Modifications of tau protein after cerebral ischemia and reperfusion in rats are similar to those occurring in Alzheimer's disease - Hyperphosphorylation and cleavage

of 4- and 3-repeat tau. J Cereb Blood Flow Metab. (2017) in press

Katarao, K., Murakawa, S., Asano, M., Usuki, N., Yamamoto, H., Shirafuji, T., Tanaka, S., Hide, I. and Sakai, N. The development of screening methods to identify drugs to limit ER stress using wild-type and mutant serotonin transporter. Acta Histochem.Cytochem. 49 (2016) 197-206

重 5-4

放射線災害が福島県小児の肥満に及ぼす影響についての要因分析

研究組織

共同研究代表者：菖蒲川 由郷

(新潟大学医歯学系：准教授)

共同研究者：後藤 淳

(新潟大学研究推進機構アイソトープ総合センター：助教)

藤原 武男

(東京医科歯科大学：教授)

内藤 眞

(新潟医療センター病理部：部長)

Yoh Kawano

(カリフォルニア大学ロサンゼルス校：講師)

受入研究代表者：大平 哲也

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

受入研究者：前田 正治

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

橋本 重厚

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

平成 23 年度の福島県県民健康管理調査「こころの健康度・生活習慣に関する調査」に回答した小中学生のうち、同年度の健診データと突合し身長と体重が分かったものを対象とした。健診データから肥満度を IOTF（国際肥満タスクフォース）の基準により判定し、生活習慣・心理と肥満度の関連を横断的に評価した。

対象者 8354 名（男 4196 名、女 4158 名）のうち、肥満 5.2%、過体重 15.8%、正常 79.0%であった。単変量解析では、運動頻度が低いほど肥満・過体重の割合が大き（ $P<0.01$ 、 χ^2 検定）、SDQ のスコアが高い（困難が大きい）ほど肥満・過体重の傾向にあった（ $P<0.01$ 、 χ^2 検定）。睡眠の満足度と肥満・過体重の割合に有意な関連はなかった。多変量解析（ロジスティック重回帰分析）においても、運動頻度が低いことと SDQ の点数が高いことが有意に肥満と過体重に関連していた。

今年度の分析から、横断研究において、生活習慣・心理と肥満度の一定の関連が明らかとなった。今後、さらに詳細な分析と縦断的な検討を進める計画である。

発表論文

なし

重 5-5

広島・長崎の原爆による放射線急性症状の発現確率に関する研究

研究組織

共同研究代表者：横田 賢一

(長崎大学原研情報室：助教)

共同研究者：三根 真理子

(長崎大学原研情報室：客員教授)

受入研究代表者：保田 浩志

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

受入研究者：大瀧 慈

(広島大学原爆放射線医科学研究所：名誉教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、広島および長崎の原爆による急性症状の発現データを統合し、爆心から比較的遠距離の低線量での急性症状の発現確率について、数理モデルにより解析することを最終目標としている。放射線の確定的影響としての急性放射線障害が発現する線量には閾値があるとされているが、これまで行ってきた研究から原爆による急性症状の観察データでは、はるかに閾値を下回る推定線量での症状の発現がみられている。これには、個体差があることも考えられるが、むしろ症状原因の誤認識や自己申告による情報バイアスの影響が大きいと考えている。当時は栄養状態も悪く、原爆被害が明らかになる中で心理的不安も大きい時期であったことも考慮しなければならない。しかし症状の情報精度には限界がありすべてを明らかにすることは不可能である。今年度は急性症状の発現データに関する再認識と今後の解析に向けてこれまで進めてきた広島および長崎における急性症状に関する解析結果や研究方法について意見交換と情報共有を図ることができた。また、広島においても長崎と同様に急性症状のデータベース化が計画されており、長崎においても他の情報源による急性症状データの充実を進めている。今後、広島、長崎での被爆直後の調査データの整備を進め、どの程度の距離、被曝線量で急性症状がみられる可能性があるのかについて解析を進める。これにより放射線漏えい事故時の正しい知識提供に資することができると考えられる。

発表論文

計画中

重 5-6

ABCC/RERF 関連資料を利用した放射線災害による健康影響研究の基礎的研究

研究組織

共同研究代表者：飯田 香穂里

(総合研究大学院大学先端科学研究科:准教授)

受入研究代表者：久保田 明子

(広島大学原爆放射線医科学研究所:助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究を開始した 2016 年度に学習院大学の科学研究費のプロジェクトから原医研附属被ばく資料調査解析部(受入研究者所属部署)に多くの資料の寄贈を受けたが、その大半は ABCC/RERF の刊行物等の資料であった。これらは、元々広島 ABCC/RERF に所蔵されていたものがアメリカのテキサスメディカルセンターライブラリ(TMCL)に送られ、そこから更に学習院大学のプロジェクトに寄贈されたものである。学習院では科研費のプロジェクトが終了するため、原医研附属被ばく資料調査解析部へ寄贈を決めた。そこで今回はまず、300 冊程度のこの関連資料を調査し、目録を作成した。その結果、資料の中には、もともと原医研にある ABCC/RERF 関連資料にないものなどもあった。原医研の当該資料は 2 万件にも及ぶが、今回の学習院大学の寄贈資料はそれを補完できることがわかった。

今後は、この学習院大学寄贈資料の整備を進めるとともに、もともと原医研にある部分の整理をこれらと関連付けて整理し、ABCC/RERF および原医研を含む広島大学の医学研究者たちの健康影響研究や調査の現在までの足跡を整理し、研究を発展させることとする。

発表論文

久保田明子, 杉原清香, 瀧原義宏「広島大学原爆放射線医科学研究所蔵アール・レイノルズ資料について:医学記録資料の活用に関する一考察」『長崎医科学雑誌』91(特集号), pp.167-171, 2016 年 9 月, 所収

重 5-7

原爆被爆者に関するプルトニウムと内部被曝の研究

研究組織

共同研究代表者：七條 和子

(長崎大学原爆後障害医療研究所腫瘍・診断病理:助教)

受入研究代表者：保田 浩志

(広島大学原爆放射線医科学研究所:教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、広島 AFIP 返還試料を参考に、長崎のプルトニウム型原子爆弾による人体に残留放射能を検出し、測定器によるアルファ放射体の低線量評価を行うこと、更に、広島、長崎原爆被爆者について内部被曝の人体影響を病理学的に研究することである。原爆被爆者における放射線障害は外部被曝線量によって厳密に評価されている。しかしながら、入市被爆者における染色体異常(鎌田他 2006)の報告は外部被曝のみで説明することは難しい。我々は、長崎原爆被爆者病理標本上にアルファ粒子飛跡を検出し、原爆被爆者体内に残留放射能が存在することを証明した。今回、広島原爆フォールアウト地域 4 重がん症例の肺がん組織でオートラジオグラフィを行い、放射線飛跡が ^{235}U 内部被ばくである可能性を示唆した¹⁾。また、甲状腺がんの遺伝子検索を行い、がん発生の前段階にゲノム不安定性が関与することを提唱した²⁾。一方、内部被曝の人体影響を病理学的に研究する一環として、我々はカザフスタンセメイ医科大学との共同研究でラットについて内部被曝実験を行い、外部被曝とは異なった病理学的所見を認める研究成果が得られた³⁻⁵⁾。今後は、アルファ粒子放射線の生物学的効果を検討するために、オートラジオグラフィを行い、病理標本組織における細胞核線量、吸収線量などの算出を試みる。

発表論文

- (1) 広島フォールアウト地域 4 重がん症例の肺がん組織で証明された内部被ばく 鎌田七男, 七條和子, 松山睦美, 高辻俊宏, 武島幸男, 関根一郎, 中島正洋. 広島医学 69(4): 359-361, 2016
- (2) Mussazhanova Z, Akazawa Y, Matsuda K, Shichijo K. et al. Association between p53-binding protein 1 expression and genomic instability in oncocytic follicular adenoma of the thyroid. Endocrine Journal 63(5): 457-467, 2016

- (3) Stepanenko VF, Rakhypbekov TK, Kaprin AD, Ivanov SA, Otani K, Endo S, Satoh K, Kawano N, Takatsuji T, Nakashima M, Shichijo K, Sakaguchi A, Kato H, Onda Y, Fujimoto N, Toyoda S, Sato H, Kolyzhenkov TV, Petukhov AD, Dyussupov AA, Chaizhunusova NZh, Sayakenov NB, Uzbekov DE, Saimova AZh, Shabdarbaeva DM, Pivina LN, Skakov MK, Vurim AD, Gnyrya VS, Azimkhanov AC, Kolbayenkov AN, Zhumadilov KSh, Kairkhanova YO, Yaskova EK, Belukha IG, Skvortsov VG, Ivannikov AI, Khailov AM, Akhmedova UA, Bogacheva VV, Anokhin YuN, Orlenko SP, Hoshi M. Irradiation of laboratory animals by neutron activated dust: development and application of the method - first results of international multicenter study. *Radiation and Risk* 25, 111-125, 2016
- (4) Stepanenko, V, Rakhypbekov, T, Otani, K, Endo, S, Satoh, K, Kawano, N, Shichijo, K, Nakashima, M, Takatsuji, T, Sakaguchi, A, Kato, H, Onda, Y, Fujimoto, N, Toyoda, S, Sato, H, Dyussupov, A, Chaizhunusova, N, Sayakenov, N, Uzbekov, D, Saimova, A, Shabdarbaeva, D, Skakov, M, Vurim, A, Gnyrya, V, Azimkhanov, A, Kolbayenkov, A, Zhumadilov, K, Kairkhanova, Y, Kaprin, A, Galkin, V, Ivanov, S, Kolyzhenkov, T, Petukhov, A, Yaskova, E, Belukha, I, Khailov, A, Skvortsov, V, Ivannikov, A, Akhmedova, U, Bogacheva V, Hoshi, M. Internal exposure to neutron-activated ^{56}Mn dioxide powder in Wistar rats Part 1: Dosimetry. *Radiation Environmental Biophysics* DOI 10.1007/s00411-016-0678-x, 2017
- (5) Shichijo K, Fujimoto N, Uzbekov, D, Kairkhanova, Y, Saimova, A, Chaizhunusova, N, Sayakenov, N, Shabdarbaeva, D, Aukenov, N, Azimkhanov A, Kolbayenkov, a, Mussazhanova, J, Niino, D, Nakashima, M, Zhumadilov, K, Stepanenko, V, Tomonaga, M, Rakhypbekov, T, Hoshi, M. Internal exposure to neutron-activated ^{56}Mn dioxide powder in Wistar rats Part 2: Pathological effects. *Radiation Environmental Biophysics* DOI 10.1007/s00411-016-0676-z 2017

重 5-8

臨床データの完備した長崎原爆の被爆者研究集団の構築

研究組織

共同研究代表者：相川 忠臣

(日本赤十字社長崎原爆病院：検体検査管理医)

共同研究者：重松 和人

(日本赤十字社長崎原爆病院：所長)

谷口 英樹

(日本赤十字社長崎原爆病院：副院長)

平野 明喜

(日本赤十字社長崎原爆病院：院長)

受入研究代表者：横田 賢一

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

受入研究者：三根 真理子

(長崎大学原爆後障害医療研究所：客員教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

長崎原爆病院は、1958年の開設から現在まで58年間の原爆被爆者のカルテ、病理記録・標本を有している。2014年に長崎県、長崎市及び長崎大学との個人情報協定を締結。来院歴のある被爆者の被爆情報を連結し、臨床データの完備した被爆者研究対象集団を構築するため長崎大学の原爆被爆者データベースにある県内の全被爆者との照合同定を行った。

長崎原爆病院の1983年以降32年間の原爆被爆者患者53,290人が抽出できたので、長崎大学データベースとの照合同定を行った結果、長崎原爆被爆者として49,090人が同定できた。長崎大学データベース1970年以降77,884件の63%であつた。長崎市在住43,124人、長崎県在住5,956人であつた。一致しない候補者3,244人について調査中である。

長崎市在住43,124人の、長崎大学固定追跡集団、1983年大学コホートに占める割合は直接被爆者の48%、爆心地より2.5km未満は57.4%、3km以遠は44%と遠距離被爆者が少なかった。被爆年齢40歳以上が少ないこともわかった。そのような偏りはあっても、2.5km未満の直接被爆者を多く含むのは強みでもある。

今後全カルテスキャンを実施していく過程で得られる1958年から1982年までの被爆者情報を長崎大学のデータベースと照合していくとともに、匿名化して情報交換ができるようにし、主要な診断と治療の情報の電子化を推進していく。全カルテが保存され、臨床データの完備した長崎

原爆被爆患者の研究対象集団を構築し、幼少年時の低線量被爆ががんのみならず、多くの成人病の発症に関与するかどうかを明らかにしたい。

発表論文

1. 平野明喜, 相川忠臣: 幼少年被爆者における原爆の晩発性放射線障害の検討。広島医学 69(4): 264-266, 2016.
2. 横田賢一, 相川忠臣, 重松和人, 谷口英樹, 近藤久義, 三根真理子, 平野明喜: 長崎原爆病院患者における被爆者追跡集団の構築 長崎医学会雑誌 91: 163-166, 2016

重5-9

放射線被ばくに伴う健康不安と妊娠・出産・育児不安が抑うつに与える影響

研究組織

共同研究代表者: 伊藤 慎也

(北里大学看護学部: 講師)

共同研究者: 後藤 あや

(福島県立医科大学総合科学教育研究センター: 教授)

佐々木 美恵

(埼玉学園大学人間学部: 准教授)

岡部 聡子

(郡山女子大学家政学部: 准教授)

紺野 信弘

(郡山女子大学家政学部: 教授)

安村 誠司

(福島県立医科大学医学部: 教授)

受入研究代表者: 及川 祐一

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター: 助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

福島県の女子大学生および短大生は、放射線被ばくによる健康不安、妊娠・出産・育児への不安意外に、日常生活のストレス（環境変化や就職活動等）が抑うつ傾向に影響していることが考えられる。本調査では、福島県の女子大学生および短大生における、放射線被ばくに伴う健康不安および日常生活ストレスなど、抑うつ傾向に影響を及ぼす要因を明らかにすることを目的とした。

本調査は、福島県にある某大学および短期大学の養護教員および学生相談員を対象にヒアリング調査を実施した。大学生の抑うつに影響する要因は、対人関係・試験・金銭問題、などが挙げられた。また、日常会話にはあがらないが放射線被ばくに伴う健康不安があることが示唆された。抑うつ傾向の影響要因は、学年および時期によって異なることが示唆された。大学4年生は8月以降から国家試験・卒業研究・就職活動があること、大学3年生は9月頃に学外実習や講義数が多くなること、等からストレス負荷が強くなることが示唆された。一方、大学1、2年生は実習などがなく、講義数も緩やかであることから比較的ストレス負荷が小さいことが示唆された。短大生の場合、2年間で実習、就職活動、資格取得などがあることから、絶えずストレス負荷が強いことが示唆された。

今後は、質問紙調査等を実施することで、放射線被ばくに伴う健康不安を含む、抑うつ傾向要因の影響力の程度を

明らかにし、効果的な介入方法を検討することが重要と考える。

発表論文

なし

重 5-10

福島県外避難住民の循環器疾患登録方法の確立に関する研究

研究組織

共同研究代表者：梅澤 光政

(獨協医科大学医学部公衆衛生学講座：助教)

共同研究者：小橋 元

(獨協医科大学医学部公衆衛生学講座：教授)

受入研究代表者：大平 哲也

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

受入研究者：高橋 秀人

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、これまでの研究により循環器疾患ハイリスク者であることが明らかとなっている福島県の避難区域住民のうち、現在の体制では循環器疾患の発症を把握し、発症登録を行うことが難しい、福島県外に避難している避難区域住民の循環器疾患発症登録についてその手法の確立を行うことを目的としている。今年度は発症登録を行うための疾病罹患状況の把握を行うツールとして死亡小票の活用を検討するとともに、その際に生じる問題点の洗い出しを行った。

今年度は、平成 23 年 1 月 1 日～平成 25 年 12 月 31 日の間に福島県内の市町村に届け出のあった者の死亡小票に記載されていた病名・症候名合わせて 6,515 件を分析した。

この 6,515 件を他の一切の情報から切り離した上で循環器疾患に通じた医師が閲覧し、脳卒中に関連すると考えられた病名・症候名を抜き出した。その件数は 512 件であった。このうちの半数以上で、誤字などの疾病名の誤り、表記ゆれが認められた。

今年度行った調査により、死亡小票による脳卒中の罹患の把握は可能であることが示唆されたが、その一方で、死亡小票に記載されていた病名、症候名には誤字・脱字が認められた。このことから、脳卒中罹患者の正確な把握のためには、死亡小票のデータを一定のキーワードで検索するだけでなく、医師など専門職が確認する必要があることが伺われた。今後、この成果を用いて県外避難者の発症登録を確立し、県内避難者と比較できるようにしていく予定である。

発表論文

なし

重 5-11

血液検査及び鬱指標を用いた心的外傷後ストレス予後評価ツールの開発

共同研究代表者：清水 悠路

(大阪がん循環器病予防センター予防推進部：主幹兼医長)

共同研究者：羽山 実奈

(大阪がん循環器病予防センター予防推進部：医長)

能戸 真梨子

(大阪がん循環器病予防センター予防推進部：技師)

受入研究代表者：太平 哲也

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

受入研究者：橋本 重厚

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

前田 正治

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

平成 23 年度に行われた県民健康管理調査「こころの健康度・生活習慣に関する調査」を用いて 40 - 74 歳の男性 18,506 人、女性 21,398 人を対象に、心的外傷後ストレス (PCL スコア 44 以上を PTSD と定義) と心臓病既往の有無との関係、及びこの関係における鬱 (K6 スコア 5 以上で鬱と定義) の影響を検討した。結果は、心臓病既往「有」は有意に PTSD のオッズをあげるが、その関係は特に鬱を有していない者に強い関連を示すことを認めた。これらの結果は、鬱が PTSD と心臓病既往との関係に影響を与え得ることを示しており、本研究の仮説である血液検査及び鬱指標が PTSD 予後の評価に有用である事の可能性を支持し得るものである。

今後は、県民健康管理調査と血液検査データを突合することにより、心臓血管病関連因子の PTSD との関連及び鬱のこの関連への影響を解明する予定である。更には、平成 23 年度県民健康管理調査を受けた者で、少なくとも平成 24 年もしくは平成 25 年にも同様の調査を受けたものを対象に、PTSD 指標の変化を算出し検討を行う予定である。また、既に統計解析を行い結果が得られた部分に関しては、関連学会での発表や論文化を進めていく予定である。

発表論文

現在、関連学術誌（国際誌）に投稿するための解析を進めている。

重 5-12

広島原爆被爆者における 2 次的被曝影響の地域差分析

研究組織

共同研究代表者：富田 哲治

(県立広島大学経営情報学部経営情報学科：准教授)

受入研究代表者：佐藤 健一

(広島大学原爆放射線医科学研究所：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

今年度は、研究課題の「広島原爆被爆者における 2 次的被曝影響の地域差分析」で用いる分析法の開発を中心に研究を行った。その研究成果として、共変量の効果では説明できない経時変化および空間変化をノンパラメトリックに推定する方法を開発し、Tonda and Satoh (2017) で発表した。今後は、ABS データ分析への応用研究に発展させていく計画である。

発表論文

1. T. Tonda and K. Satoh: Estimating varying coefficients for longitudinal data without specifying spatial-temporal baseline trend, Journal of The Japan Statistical Society, in press.
2. 富田哲治, 佐藤健一, 和泉志津恵: 広島平和宣言における単語出現頻度に基づく広島の平和観の経時変化について, 長崎医学会雑誌, 91, 176-179, 2016.
3. 佐藤健一, 富田哲治, 大谷敬子, 佐藤裕哉, 原憲行, 川上秀史, 瀧原義宏, 星正治, 大瀧慈: 広島大学における DS02 準拠の原爆線量評価体系 (ABS16D) の実装について, 長崎医学会雑誌, 91, 197-201, 2016.
4. K. Satoh, T. Tonda and S. Izumi: Logistic regression model for survival time analysis using time-varying coefficients, American Journal of Mathematical and Management Sciences, 35(4), 353-360, 2016.
5. 富田哲治, 佐藤健一, 大谷敬子, 佐藤裕哉, 原憲行, 川上秀史, 瀧原義宏, 星正治, 大瀧慈: 広島原爆被爆者における性別・被爆時年齢階級別固形がん死亡危険度の被爆時所在地に関する空間分布の特徴, 広島医学, 69(4), 342-345 2016.
6. 佐藤健一, 富田哲治, 大谷敬子, 佐藤裕哉, 原憲行, 川上秀史, 瀧原義宏, 星正治, 大瀧慈: 広島原爆被爆者における固形がん死亡危険度に対する非初期放射線の影響とその被爆時年齢依存性について, 広島医学,

69(4), 380-384, 2016.

7. K. Satoh and T. Tonda: Estimating regression coefficients for balanced growth curve model when time trend of baseline is not specified, American Journal of Mathematical and Management Sciences, 35(3), 183-193, 2016.

重 5-13

内部被ばく予測手法の高度化を目指した放射性核種の大気中挙動・起源の解明

研究組織

共同研究代表者：平尾 茂一

(福島大学環境放射能研究所：講師)

受入研究代表者：反町 篤行

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

福島事故時初期において、放射性プルームからの被ばく線量推定の不確かさが大きかった要因の一つに、放射性物質の大気中挙動に関する我々の知見不足が挙げられる。本研究では放射性プルームからの被ばく線量予測の精緻化を目指し、放射性エアロゾルの大気中での挙動解を目的に、1) 大熊町でエアロゾル中の放射能濃度の測定、2) 2013年10月から得られている大気中濃度の時間変化と、気象条件および粒子特徴の関係および発生源を検討した。本研究期間では2016年10月から測定を開始し、粒径1.1 μm 以上の粗大粒子とそれ未満の微小粒子のCs-134とCs-137の放射能濃度を一ヶ月毎に得た。放射能測定にはHPGe半導体検出器を用いた。1F敷地内で得られた風向風速の観測値を解析に用いた。その結果、Cs-137大気中濃度は0.2から0.7 mBq m^{-3} であり、わずかに漸減傾向を示すものの事故前と比べて約2桁高いことを明らかにした。粗大粒子の濃度は微小粒子よりも約4倍高く、共に季節変化(冬季から春季に高濃度、夏季に低濃度)を示した。ただし、粗大粒子では夏季でも高濃度が観測される期間があった。季節変化の要因として、1) 大気中濃度と風速の関係から、強風時に土壌の舞い上がりで大気中にCs-137が供給される可能性、2) 風が弱い条件でも粗大粒子の濃度が高い期間があり、土壌とは異なる生物由来等の供給源の可能性、3) 日中の除染活動の可能性等が考えられる。走査型電子顕微鏡を用いて粒子の特徴を観察したところ、形状および元素組成比より土壌粒子、海塩粒子およびその変質粒子、硫酸塩や硝酸塩粒子、花粉等が見られ、必ずしも土壌からの供給だけではないことが示唆された。本研究より大熊町のCs-134とCs-137を含む放射性エアロゾルの実態、粒径毎に異なる挙動あるいは生成過程の存在を示唆する結果が得られた。しかし大気浮遊塵を構成する粒子の全体像および放射性物質との対応関係は必ずしも十分ではない。今後、粒子毎に異なる放射能を持つ現実を反映させた被ばく線量評価手法を検討するとともに、個別粒子の特徴と放射能の

関係、福島事故由来のその他の放射性物質の実態解明を進める。

発表論文

なし

重5-14

小学児童における睡眠状態とメンタルヘルスとの関連

研究組織

共同研究代表者：谷川 武

(順天堂大学 医学部公衆衛生学教室：教授)

共同研究者：野田 愛

(順天堂大学 医学部公衆衛生学教室：准教授)

和田 裕雄

(順天堂大学 医学部公衆衛生学教室：准教授)

丸山 広達

(順天堂大学 医学部公衆衛生学教室：助教)

鈴木 洋平

(順天堂大学 医学部公衆衛生学教室：大学院生)

受入研究代表者：大平 哲也

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

受入研究者：前田 正治

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

矢部 博興

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

既に共同研究者が入手している松山市内の全46小学校、約2万4千人を対象として行われた質問票による調査結果をもとにして、小児の睡眠時間と多動・不安症状の関連について検討を行い、さらに、小児の睡眠時間と多動・不安症状の関連についても検討を行った。統計解析には、解析ソフトSASを使用し、ロジスティック回帰分析を行い、オッズ比を算出して、上記の関連を調べた。研究成果の一部は、2016年2月に東京で開催された第53回睡眠呼吸障害研究会（演題名「児童の多動・不安傾向といびきの関連に関する研究」）、及び2016年10月に大阪で開催された第75回日本公衆衛生学会総会（演題名「小児の多動及び不安傾向と肥満との関連」）にて報告を行っている。

今後の展望であるが、現在、福島県民調査の小学生のデータ利用申請を行っており、データが得られ次第、福島県のデータでも、同様の統計解析を行い、東日本大震災で被災した地域と被災しなかった地域とのデータの比較検討を行う予定である。また、既に統計解析を行い結果が得られた部分に関しては、論文化を進めていく予定である。

発表論文

現在、海外雑誌に投稿するべく論文を作成中である。

重 5-15

震災前後における生活・経済状況の変化と循環器疾患との関連

研究組織

共同研究代表者：野田 愛

(順天堂大学公衆衛生学教室：准教授)

共同研究者：谷川 武

(順天堂大学公衆衛生学教室：教授)

和田 裕雄

(順天堂大学公衆衛生学教室：准教授)

丸山 広達

(順天堂大学公衆衛生学教室：助教)

池田 里美

(順天堂大学公衆衛生学教室：大学院生)

受入研究代表者：大平 哲也

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

受入研究者：橋本 重厚

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

前田 正治

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

生活・経済状況の変化は、ストレスやうつなどの否定的感情をもたらし、交感神経系の緊張や糖代謝異常を介して、動脈硬化を促進させ、循環器疾患のリスクを増加させると考えられている。

特に震災による住居、家族形態、雇用形態等の変化は、ストレスや不眠、生体リズムの崩壊、代謝低下、偏った食生活を招き、肥満や高血圧をもたらすと考えられる。現在、震災前と変わらない生活・経済状況を取り戻し、健康状態が改善した人がある一方で、今なお生活・経済状況が震災後から変化しない、もしくは震災後より悪化し、肥満や高血圧傾向が継続している人も存在すると考えられる。そこで震災による生活状況の変化が、特に肥満や血圧に及ぼしている影響について経時的に検討し、これらの関連を明らかにすることを目的とした。

今回、前段階の研究として、CIRCS 茨城県筑西市協和地区の住民 1087 名を対象に、肯定的感情が血圧に及ぼす影響について検討を行った。日常生活で笑う頻度を 3 段階に分け、2011 年から 2014 年の血圧値の経時変化との関連について一般化線形混合モデルを用いて縦断的検討を行った。その結果、男性において収縮期・拡張期血圧ともに、日常的に笑う頻度が少ない人の方が経時的に血圧が上

昇する傾向であるという結果が得られ、女性では差異を認めなかった。この結果から、特に男性で、普段笑いの頻度が少ないことが血圧値を上昇させる可能性を示しており、福島県民調査においても心理社会的ストレスが血圧値や BMI に経年的に影響しているのではないかと考えている。現在、福島県民調査のデータ利用申請を行っており、データが得られ次第、震災前後での住居、家族形態、雇用形態の変化と BMI・血圧の関連について解析を行う予定である。

本研究により、震災による生活・経済状況の変化は、震災直後だけでなく、その後の健康状態にも経時的に影響していることを明らかにし、生活・経済状況の変化に対し、早期に改善策を講じる必要性を示唆することができる。生活・経済状況の改善が将来的な生活習慣病発症のリスク軽減につながることを示すことで、震災だけでなく、社会全体においても生活・経済状況の改善の重要性を明らかにすることが可能となる。

発表論文

上記 CIRCS における研究結果で現在論文作成中。

重 5-16

放射線災害における歯科領域への健康影響について

研究組織

共同研究代表者：江口 依里

(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科公衆衛生学分野：助教)

共同研究者：坪井 綾香

(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科歯周病態学分野：大学院生)

萩野 景規

(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科公衆衛生学分野：教授)

高柴 正悟

(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科歯周病態学分野：教授)

受入研究代表者：大平 哲也

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

受入研究者：橋本 重厚

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

前田 正治

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、震災時に福島第一原子力発電所の避難地域に居住しており、震災後に県民健康調査を受診した者を対象とし、平成23年度こころの健康・生活習慣に関する調査に回答した73,433人を対象に、うつ状態、トラウマ反応、運動習慣、飲酒、喫煙習慣、震災による避難の有無、失業の有無、と震災後の歯の症状との関連を検討した。歯の症状は、「ここ数日、病気やけがなどで体の具合の悪いところ（自覚症状）がありますか。」の質問に対し、“歯の痛みが災害後悪化した”と回答したものを歯の悪化症状ありとした。うつはK6にて評価し、13点以上をうつ状態と定義した。トラウマ反応はPTSD Checklist (PCL)にて評価し、44点以上をトラウマ反応ありと定義した。運動習慣は週に1回以下のものを運動習慣なしと定義し、飲酒は月に1回以上を飲酒習慣ありと定義した。解析は、ロジスティック回帰分析を用いてオッズ比を算出した。その結果、避難している、うつ状態である、トラウマ反応がある、喫煙者、失業者において歯の痛みが災害後悪化した割合が有意に高く、該当項目以外のすべての変数にて調整した多変量調整オッズ比(95%信頼区域)は、避難1.5(1.2-1.8)、うつ状態1.8(1.5-2.3)、トラウマ反応2.8(2.3-3.5)、喫煙1.2(1.0-1.5)、失業1.6(1.4-2.0)と、トラウマ反応が最も震災後の歯の痛み悪化と関連が強かった。以上より、震災後の避難、失業等の社会的要因、うつ状態、トラウマ反応等の心理的

要因、喫煙等の生活習慣は歯の痛み悪化に関連することが明らかであり、こうしたリスクを抱える被災者においては歯科領域のケアが重要と考えられた。今後、男女別、年代別等で層別し、さらに詳細に検討する予定である。

発表論文

なし

重 5-17

広島・長崎の原爆による放射線急性傷害発現危険度の評価のための方法論的研究

研究組織

共同研究代表者：大瀧 慈

(広島大学原爆放射線医科学研究所線量評価分野：客員教授)

共同研究者：大谷 敬子

(広島大学原爆放射線医科学研究所計量生物分野：研究員)

受入研究代表者：横田 賢一

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究では、広島原爆被爆直後に観られた急性症状発症と被爆状況の関連性についての於保による実態調査を取り上げ、最新の統計解析法の適用による調査データの再解析を検討した。また、広島原爆投下当日の8月6日における広島市内への入市状況とその後の急性症状発症に関係についてNHKの協力を得て我々が行ったある兵士集団を対象としたアンケート調査の結果に基づいて、放射性粉塵の吸飲による内部被曝が急性症状発症や後障害発症の主因である可能性について検討し、「粉塵被曝有り」と答えた兵士において統計的に有意な高頻度で急性症状の発症があったことを検出した。

今後は、放射性粉塵の吸飲による内部被曝による急性傷害発生の機序やその危険度の定量的評価方法について、モンテカルロ数値実験などによる検討を行う予定である。

発表論文

- 1) 大瀧 慈, 大谷敬子：広島原爆被爆者における健康障害の主要因は放射性微粒子である, 科学, 86 巻(8), 0819-0830, 2016. (2016 年 8 月)
- 2) 大瀧 慈, 大谷敬子, 富田哲治, 佐藤裕哉, 原 憲行, 川上秀史, 瀧原義宏, 星 正治, 佐藤健一：広島原爆被爆者における後障害の主要因は放射線微粒子被曝である, 長崎医学会雑誌, 91 巻, 特集号, 216-223, 2016. (2016 年 9 月)

重 5-18

広島原爆被爆者における非初期放射線曝露による健康影響の統計的評価研究

研究組織

共同研究代表者：大瀧 慈

(広島大学原爆放射線医科学研究所線量評価分野：客員教授)

受入研究代表者：保田 浩志

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究では、直接被爆者の後障害である固形がん死亡の超過危険度の被爆地点依存性の特徴が初期線量では説明できないことについて検証を試みた。解析対象は広島大学原爆放射線医科学研究所の原爆被爆者コホートデータベース (ABS) に登録されている広島原爆の被爆者のうち、60 歳未満のときに爆心地から 2000m 以内で被爆し、1970 年 1 月 1 日の時点で広島県内に居住 (生存) していた 18,154 人 (男性 6,815 人、女性 11,339 人) である。追跡は最長で 2010 年 12 月 31 日までの期間であり、広島県外へ転出した場合は「中途打ち切り」として扱った。爆心地から 1000m ~ 2000m の円環領域を 200m ごと分割し、それに 500m ~ 1000m の円環領域を追加して 7 個の円環領域を作成し、さらにそれらの円環領域を 2 方位 (東、西) に再分割を行い、それぞれの円弧領域毎に、1970 年 ~ 2010 年の 41 年間における (全日本を基準集団とした) 期待死亡数と観察死亡数を男女別年齢階級別に求め、その比 (標準化死亡比、以下 SMR と記す) を算出した。被爆距離が 1.2km ~ 1.4km での初期被爆線量 (約 700mSv 前後) は 1.0km ~ 1.2km での初期被爆線量 (約 1.5Sv) の約 50% 程度であるが、SMR の値は男女ともほぼ全ての被爆時年齢層において被爆距離 2.0km 近傍での水準にまで急激に低下していた。放射線被曝による発がんの超過相対危険度は被爆線量と共に直線的に増大するといういわゆる LNT 仮説ではこのような被爆距離依存性に対して初期被爆線量による説明はできない。この現象は、見方を変えると SMR の値は被爆時年齢が若い場合を中心に爆心地の 1.2km 以内の近傍領域で特異的に高値となっているという解釈もできる。今後は、原爆による被爆線量や放射線に対する感受性の個人差を考慮に入れたがん発生危険度の線量依存性や被爆線量と背景因子の交互作用の推定方法について、検討する予定である。

発表論文

- 1) 大瀧 慈, 大谷敬子, 富田哲治, 佐藤裕哉, 原 憲行,

川上秀史, 瀧原義宏, 星 正治, 佐藤健一: 広島原爆被曝者における後障害の主要因は放射線微粒子被曝である, 長崎医学会雑誌, 91 巻, 特集号, 216-223, 2016. (2016 年 9 月)

重 5-19

生物学的線量測定に影響を与える因子の探索

研究組織

共同研究代表者: 竹石 恭知

(福島県立医科大学循環器内科学講座: 主任教授)

共同研究者: 石田 隆史

(福島県立医科大学循環器内科学講座: 教授)

石田 万里

(広島大学医歯薬保健学研究院: 講師)

受入研究代表者: 田代 聡

(広島大学原爆放射線医科学研究所: 教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

福島県立医科大学附属病院に虚血性心疾患の疑いにて入院した患者を対象に、採血を行い単核球内の DNA 切断を gammaH2AX 染色で、染色体異常を FISH を用いた dicentric chromosome の定量にて評価し、生活習慣および生活習慣病、そして冠動脈所見などとの関連を検討している。解析済みの症例が未だ少ないため、確定的な結論は出ていないが、年齢、喫煙習慣、糖尿病、脂質異常と DNA 損傷との関連が認められる傾向がある。今後、症例をさらに重ねて検討する予定である。また、概して DNA 損傷を検出する感度は FISH の方が高い印象がある。今後、gammaH2AX 染色も増殖刺激を加えることにより感度が増加しないか、その際特異度が損なわれないか検討していきたい。

発表論文

Association between levels of anti-angiogenic isoform of vascular endothelial growth factor A and pulmonary hypertension. Suzuki S, Yoshihisa A, Yokokawa T, Misaka T, Sakamoto N, Sugimoto K, Yamaki T, Kunii H, Nakazato K, Saitoh S, Takeishi Y. *Int J Cardiol.*; 222: 416-20.

Prognostic significance of periodic leg movements during sleep in heart failure patients. Yoshihisa A, Suzuki S, Kanno Y, Takiguchi M, Sato A, Miura S, Masuda A, Yokokawa T, Shimizu T, Nakamura Y, Yamauchi H, Owada T, Abe S, Sato T, Oikawa M, Saitoh S, Takeishi Y. *Int J Cardiol.* 2016; 212: 11-3.

Senescence marker protein-30 deficiency impairs angiogenesis under ischemia. Yamauchi H, Miura S,

Owada T, Saitoh S, Machii H, Yamada S, Ishigami A, Takeishi Y. *Free Radic Biol Med.* 2016; 94: 66-73.

重 5-20

Mobile screening for metabolic and thyroid disorders and other external agents as possible associated factors for persisting thyroid malignancy incidence level

Research Organization:

Representative Joint Researcher: Lushchyk Maxim (Assistant Professor: Endocrinology Department, Thyroid Disease Research Unit, Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education)

Joint Researcher: Danilova Larisa (Professor, Chief of Endocrinology Department, Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education), Tuzava Hanna (Postgraduate Student, Senior Researcher: Thyroid Disease Research Unit, Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education), Sivuda Vladimir (Endocrinologist, Chief of Mobile Diagnostic Laboratory, Brest Regional Endocrinological Dispensary)

Representative Resident Researcher: Naomi Hayashida (Professor: Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University)

Resident Researcher: Jumpei Takahashi (Assistant Professor: Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University)

Contents, Results, and Prospects of Study:

In this study we performed a mobile screening examination of over 1600 individuals in Brest region of Belarus. Anthropometric measurements with assessment of height, weight and waist circumference were made. Subjects were questioned for family history of thyroid diseases, obesity and cardio-vascular disorders. Endocrinologist's check up and Thyroid ultrasound were performed as well as urine and blood sample collection for thyroid status, biochemistry and iodine excretion level analysis. Subjects with diagnosed thyroid nodular disease were forwarded for thyroid FNA with cytological assessment. Samples were saved for future molecular profiling. From the screened cohort a group of 320 patients with thyroid nodular disease was selected for biochemical profiling. Vitamin D receptor polymorphisms and 25OH-VitD status as well as iodine excretion were

analyzed. Results were presented on ATA 2016 meeting. A collection of biosamples from the screened patients is being collected and stored for the future molecular analysis of possible agents, associated with persisting thyroid malignancy incidence level.

Presented papers

“25-Hydroxyvitamine D Status and Vitamin D Receptor Gene Polymorphysm in Thyroid Nodular Disease Patients from Brest region of Belarus”, 86th ATA meeting, September 21-25, 2016, Denver, Colorado, USA (THYROID Volume 26, Supplement 1, 2016, Poster 245. DOI: 10.1089/thy.2016.29022.abstracts

重5-21

ヒトの血液細胞集団におけるエピジェネティック状態の加齢による変化

研究組織

共同研究代表者：多賀 正尊

((公財)放影研 分子生物科学部:研究員)

共同研究者：吉田 健吾

((公財)放影研 分子生物科学部:研究員)

：楠 洋一郎

((公財)放影研 分子生物科学部:部長)

受入研究代表者：金井 昭教

(広島大学原爆放射線医科学研究所:助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

【研究内容】

加齢により DNA メチル化状態が変化することと、原爆被爆者で放射線被曝により加齢関連疾患のリスクが上昇することから、放射線被曝が加齢によるエピジェネティックな変化を促進するという仮説が考えられる。本共同研究では、その仮説を検討するための試行調査として、健常女性ボランティアから採血・分離された各種血液細胞サブセットにおける DNA メチル化状態とそれに関連する遺伝子発現レベルの加齢による変化を網羅的に調べることを目的とした。

【研究成果】

原爆被爆者ではない健常な女性ボランティアの若年者グループ（約 20 - 35 歳、N = 10）および高齢者グループ（約 60 - 80 歳、N = 10）を対象集団とした。各対象者の末梢血から各種血液細胞サブセットをセルソーターで分離し、その DNA メチル化状態を網羅的解析も含めて調べてきた。その結果、ナイーブ CD4 T 細胞が DNA メチル化状態の加齢による変化の解析に適したサブセットの一つであることがわかった。次に、本共同研究によって、上記対象者のナイーブ CD4 T 細胞全 RNA (10 ng) からライブラリーを作製し、イルミナ社 HiSeq 2500 による RNA シーケンシングを行った。各対象者の遺伝子発現データに基づき、現在、若高齢 2 群間で DNA メチル化状態や発現レベルの異なる遺伝子について解析中である。

【今後の展望】

加齢によって DNA メチル化状態と発現レベルが変化する遺伝子が複数同定できれば、それらの遺伝子が含まれるパスウェイとそれに関連する可能性がある疾患が明らかになることも期待できる。こうした情報を基に、次に計画し

ている原爆被爆者の加齢関連疾患に関する調査の中で重要な解析ターゲットを絞ることができる。また、DNA メチル化データと遺伝子発現データの新しい統合的解析手法を行うために、国際的な共同研究も開始した。

発表論文

なし

重 6-1

歯周組織の代謝サイクルの追跡的バイオイメージングとリチウムの影響

研究組織

共同研究代表者：佛坂 斉社

(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科：准教授)

共同研究者：有菌 ケイラ

(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科：大学院生)

森田 幸子

(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科：助教)

井野 愛理

(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科：大学院生)

受入研究代表者：西 弘大

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

歯に矯正力を加えると歯周組織は改造され歯の移動が起こる。そこでは歯周組織の破壊と再生の繰り返しのサイクルがある。これまで申請者らは、リチウムが、過大な矯正力による病的な歯槽骨吸収と歯根吸収との両方を抑制することを動物実験で見出した。矯正力による歯周組織変化とリチウムの作用機序の解明を目的として、本研究を開始した。

ラットに矯正用コイルスプリングを装着し、歯の移動をおこなった。そこに Tl-201 を投与し、PET で歯根膜の虚血の検出を試みたが、検出は困難であった。しかしながら、Tc-99m を投与して SPECT を撮影したところ、歯周硬組織において顕著なカウント上昇が観察された。またこの傾向は実験側においてより強かった。このことは、矯正力によって骨代謝が上昇し、さらにリチウムによってそれが増強されることを意味している。

今後はこれらの結果を検証するために、様々な条件を設定して検討する予定である。

発表論文

1. 有菌ケイラ, 佛坂斉社, 森田幸子, 西弘大, 橋本恵, 近藤崇伸, 井野愛理, 吉田教明. 矯正力による歯の移動時の SPECT を用いた分子イメージング. 第 12 回九州矯正歯科学会学術大会, 宮崎市, 第 12 回九州矯正歯科学会学術大会プログラム・抄録集 p.15, 2017 年 3 月.
2. 井野愛理, 佛坂斉社, 橋本恵, 有田光太郎, 黒濱武士, 近藤崇伸, 有菌ケイラ, 森田幸子, 吉田教明: 塩化リ

チウム投与による歯の移動と歯根吸収への影響－ラットを用いた実験－. 第75回日本矯正歯科学会学術大会, 徳島市, 第75回日本矯正歯科学会学術大会プログラム・抄録集, p.38, 2016年10月.

重6-2

放射性同位体を用いた肺アスペルギルス症の新たな治療戦略の開発

研究組織

共同研究代表者：田代 将人

(長崎大学：助教)

共同研究者：泉川 公一

(長崎大学：教授)

中野 裕一郎

(長崎大学：技術補佐員)

河野 圭

(長崎大学：大学院生)

橋本 祐一郎

(長崎大学：学部学生)

三嶋 麻揮

(長崎大学：学部学生)

伊藤 尚希

(長崎大学：学部学生)

吉田 博人

(長崎大学：学部学生)

受入研究代表者：西 弘大

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

PET/SPECT/CT イメージングの手法と肺アスペルギルス症モデルマウスを用い、病態の解析、診断方法および治療評価法の開発を試みたところ、感染早期や感染後14日以降の回復期においては、CTで変化が見られないにも関わらず肺血流 SPECT で血流の低下がみられたことから、肺血流 SPECT によって IPA の治療開始および終了時期を決定する指標が得られる可能性が示された。また、肺血流 SPECT と Dynamic Planar の組み合わせにより IPA の診断精度を向上させる可能性が示された。今後は細菌性肺炎マウスモデルや肺ムーコル症マウスモデルとの差異についても客観的指標を用いた差別化を試みる予定である。

発表論文

1. 肺血流 SPECT による侵襲性肺アスペルギルス症と細菌性肺炎の鑑別の試み
第86回日本感染症学会西日本地方会学術集会 2016年11月24日
2. Dynamic Imaging による IPA モデルマウスにおける肺血流動態解析

第 56 回日本核医学会学術総会 2016 年 11 月 3 日

3. 肺血流 SPECT による肺アスペルギルス症の新規診断法の開発

第 10 回アスペルギルス研究会 2016 年 9 月 10 日

重 6-3

生体イメージング技術を用いた放射線影響の可視化

研究組織

共同研究代表者：齋藤 茂芳

(大阪大学医学系研究科保健学専攻：助教)

共同研究者：澤田 和彦

(つくば国際大学医療保健学部：教授)

受入研究代表者：久保 均

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究の目的は、齧歯類において胎生期放射線曝露により出生後の仔に引き起こされる脳血管、脳血管閥門、血液脳脊髄液閥門などの血管系の形成・機能異常、脳梁などの白質線維の形成・発達異常、脳内での物質代謝やトランスポータ機能の異常、脳を取り囲む頭蓋骨の形成異常などについて動物用 MRI および小動物用 PET/SPECT/CT を用いた複合的な生体イメージング技術により非侵襲的に可視化・定量評価することである。また生体イメージングの結果から得られた知見と胎生期放射線曝露線量との関連性を明らかにすることである。

本年は、大阪大学にて胎生期放射線曝露モデルの作成と条件の検討を行った。胎生期放射線曝露モデルは妊娠期のラット・マウスの全身放射線曝露実験により作成した。妊娠 15 日の妊娠 SD ラット合計 9 匹に 0.5Gy (3 匹)、1.0Gy (3 匹)、1.5Gy (3 匹) の X 線を単回全身照射した。同様に妊娠 13 日目の妊娠 C57/B6-j マウスに 0.5Gy、1.0Gy、1.5Gy の X 線を単回全身照射した。すべての放射線曝露動物から胎仔が産まれることが確認された。その後、胎生期の放射線曝露モデル動物に対して生体イメージングを用い、モデル動物の中枢神経障害の再現性を評価した。MRI および CT 撮像は 3 週齢以降、8 週齢まで 11.7T 垂直型高磁場 MRI 装置、Micro-CT を使用し撮影を行った。胎生期放射線曝露マウスおよびラットにおいて、白質体積の減少、脳容積の減少が確認された。

今後は、福島県立医科大において、モデルの作成および小動物 MRI・PET を用いて引き続き放射線照射による脳発達 (神経細胞遊走、白質線維発達など)、脳血管系の形成 (血管・微小血管の形成、脳血管閥門の機能など)、脳内での物質代謝やトランスポータ機能の異常、脳を取り囲む頭蓋骨の形成などに及ぼす胎生期放射線曝露の影響について、複合的に生体イメージング技術を用いて経時的に評

価を行う。

発表論文
なし

重 6-4

環状オリゴ糖を用いた新規放射性ヨウ素回収・保持システム開発

研究組織

共同研究代表者：伊藤 茂樹

(熊本大学大学院生命科学研究部：教授)

共同研究者：桧垣 正吾

(東京大学アイソトープ総合センター：助教)

廣田 昌大

(信州大学基盤研究支援センター：助教)

受入研究代表者：松田 尚樹

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

放射性ヨウ素は、大気中に飛散して、体内に移行すると甲状腺癌や機能低下症を誘発するなど、身体に深刻な影響を与えることから、特に慎重に管理すべき放射性物質であるとされている。これまでに、放射性ヨウ素の回収材として用いられて来た活性炭に、水への溶解度を高めるための化学修飾がなされた環状オリゴ糖（ヒドロキシプロピル化シクロデキストリン：CDHP）を添加することによって、活性炭の放射性ヨウ素吸着能が向上する可能性があることを見出した。本研究では、この効果の検証と、実用化に向けた有用性の検討を実験的に行った。実験では、放射能濃度 1kBq/g の ^{131}I 水溶液に、6 又は 7 個の D- グルコースから成る α -CDHP 又は β -CDHP を、それぞれ質量濃度が 0 %、0.033 %、0.066 %、0.1 %、0.33 %、0.66 %、1 % となる様に投入することによって 13 種類の溶液を作成した。これらの溶液を、それぞれ粒状活性炭が 0.1g 投入された 15ml のテストチューブ内に 10ml 注入した。5 日間静置した後、上澄み液を 1 ml ずつ取り出し、オートウェル γ カウンタを用いて ^{131}I 放射能濃度を測定した。CDHP 濃度と ^{131}I 放射能濃度の関係を評価することによって、CDHP の有無及び濃度が、活性炭の ^{131}I 吸着率にどのような影響を与えるのかを評価した。この結果、活性炭のみの時の ^{131}I 吸着率 63.3 % に対して、 α -CDHP を 0.1 % 添加した時の ^{131}I 吸着率 75.5 % と、最大で 12.2 % 向上した。すなわち本条件では、水溶液中の ^{131}I 残存率が 36.7 % から 24.5 % に低下することから、放射性廃液で希釈又は減衰保管による廃棄を行う場合、希釈で使用する水の量、又は保管する期間を 2/3 に削減できることが明らかになった。結論として、環状オリゴ糖（CD）は、活性炭の放射性ヨウ素吸着能を向上させるのに非常に有効であることが確認できた。実際の放射

性ヨウ素を含んだ廃液を処理する場合、活性炭やCDがヨウ素を取り込むことを阻害する物質が含まれていることが予想されることから、今後は、廃液に含まれている阻害物質の把握と、阻害物質が含まれていても¹³¹I残存率が低下することがない様にする方法を検討する予定である。

発表論文

現在、執筆中である。

重 6-5

ホウ素中性子線療法に資する PET 薬剤の開発

研究組織

共同研究代表者：水田 賢志

(長崎大学医歯薬学総合研究科：助教)

受入研究代表者：西 弘大

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、ホウ素中性子療法 (BNCT) に資するホウ素薬剤の開発を目的とし、これまでに分子標的医薬に関連する低分子へのホウ素薬剤の合成に至っている。今後、脳腫瘍、悪性骨肉腫などの治療法の 1 つで、ホウ素含有薬剤である BSH や BPA に置き換わる薬剤としての利用に期待される。しかし、がん組織に選択に到達しているかを調査するための評価方法が不十分であり、今後、改善することが望まれる。また本研究の目的は、治療と診断の両方を兼ね備えた “theranostics” を指向した BNCT – PET 薬剤の開発も目的としており、候補となるホウ素化合物への効率的かつ迅速な [¹⁸F] 化反応を確立を目指している。本研究期間内において、生理活性物質の中でも重要な骨格の 1 つであるオキシインドール環の 3 位への求核的なフッ素化反応に成功した。本反応は、[¹⁸F] F 標識化のモデル反応として利用でき、これまで合成が困難とされてきたフッ素置換 4 置換炭素の標識化合成に期待がされる。今後、これらの知見を基に、ホウ素中性子療法 (BNCT) の候補薬剤への [¹⁸F] フッ素化反応の開発に取り組む。

発表論文

Satoshi Mizuta, Hiroki Otaki, Ayako Kitagawa , Kanami Kitamura, Yuki Morii, Jun Ishihara, Kodai Nishi, Ryo Hashimoto, Toshiya Usui, and Kenya Chiba , Ionic Liquid-mediated Hydrofluorination of *o*-Azaxylylenes Derived From 3-Bromo-oxindoles(2017*in press*. 10.1021/acs.orglett.7b00887

重 6-6

 ^{99m}Tc 心筋血流核医学イメージング製剤の胆汁排泄促進法の開発

研究組織

共同研究代表者：小林 正和

(金沢大学医薬保健研究域附属健康増進科学センター：助教)

共同研究者：川井 恵一

(金沢大学医薬保健研究域保健学系：教授)

受入研究代表者：西 弘大

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

受入研究者：工藤 崇

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

臨床核医学検査において使用されている ^{99m}Tc 心筋血流製剤は、心筋細胞へ取込まれた後、肝胆道系を経由して十二指腸へと排泄されるが、その過程における肝臓・胆嚢への生理的集積により発生するアーチファクトが心筋血流シンチグラフィーの診断能低下の要因として問題になっている。本研究では、本邦で最も高鮮明かつ経時的な画像が取得可能な小動物用イメージング装置を所持する長崎大学と共同研究を行った。種々の検討の結果、オッディ括約筋弛緩効果を有する膵胆管・尿路系鎮痙剤フロプロピオンの投与による ^{99m}Tc 心筋血流製剤の胆汁排泄促進法を確立できた。今後は、本法を臨床応用することにより、 ^{99m}Tc 心筋血流製剤を用いた心筋血流シンチグラフィーの診断能向上を期待できる。

発表論文

現在作成中で特になし

重 6-7

 ^{90}Y 標識内用放射線治療薬剤の開発ー放射線障害メカニズム解析と被ばく低減のための分子設計ー

研究組織

共同研究代表者：淵上 剛志

(長崎大学医歯薬学総合研究科：准教授)

共同研究者：中山 守雄

(長崎大学医歯薬学総合研究科：教授)

吉田 さくら

(長崎大学医歯薬学総合研究科：助教)

石川 夏海

(長崎大学医歯薬学総合研究科：博士後期課程1年)

福嶋 優

(長崎大学薬学部：6年)

板垣 昂之介

(長崎大学医歯薬学総合研究科：博士前期課程1年)

受入研究代表者：西 弘大

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

新たながんの内用放射線治療薬剤としての展開を期待して、がん組織に高発現している種々の標的 (survivin, Legumain, 細胞膜リン脂質) へ特異的に集積する放射性薬剤の開発を試みた。Survivin に関して、標的蛋白へ高親和性を示す全く新しいペプチド分子の開発に成功した。そこで今後は、がん選択的な内用放射線治療薬剤への展開を検討している。また、アスパラギンエンドペプチダーゼの Legumain を標的とした酵素活性応答型の放射性ガリウム標識分子プローブの開発を試みた。その結果、Legumain が高発現しているがん細胞において、Legumain により切断される分子プローブのみが高集積を示したことから、その有用性が示された。今後は ^{68}Ga 標識分子プローブの作成と小動物 PET イメージング、さらには ^{90}Y 標識内用放射線治療薬剤へと展開していく予定である。また、がん細胞の膜表面においてのみ β -ヘアピン構造を形成し、がん細胞膜を選択的に破壊するペプチドを母体化合物として、がん細胞選択的に集積するペプチド分子の開発を試みた。今年度は基礎検討として、FITC 標識ペプチドを作成して、がん細胞を用いた集積性に関する評価を行ったところ、いくつかのペプチド分子に関して、非常に高い集積を示したため、内用放射線治療薬開発への展開の可能性が示された。

発表論文

1. Fuchigami T, Ono H, Oyadomari K, Iwatake M, Hayasaka D, Akbari M, Yui K, Nishi K, Kudo T, Yoshida S, Haratake M, Nakayama M. Development of a $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ Generator System Using Polysaccharide Polymers and Its Application in PET Imaging of Tropical Infectious Diseases. *ACS Omega*. 2, 1400-1407 (2017).
2. Kawasaki M, Fuchigami T, Kobashi N, Nakagaki T, Sano K, Atarashi R, Yoshida S, Haratake M, Nishida N, Nakayama M. Development of radioiodinated acridine derivatives for in vivo imaging of prion deposits in the brain. *Bioorg Med Chem*. 25, 1085-1093 (2017).

重 6-8

チミジンホスホリラーゼ画像化によるがんの治療効果予測：動物実験による実証

研究組織

共同研究代表者：久下 裕司

(北海道大学アイソトープ総合センター：教授)

共同研究者：趙 松吉

(福島県立医科大学先端臨床研究センター：教授)

東川 桂

(北海道大学アイソトープ総合センター：助教)

受入研究代表者：久保 均

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

共同研究者らは多くのがんに高く発現するチミジンホスホリラーゼ (TP) の発現量を画像化する新しい核医学診断薬として、5- $^{123/125}\text{I}$ -ido-6-[(2-iminoimidazolidinyl)methyl]uracil (IIMU) を開発し、本薬剤が TP 発現量に対応して、がんを集積することを明らかにしてきた。本共同研究においては、この IIMU を用いる TP 画像化の有用性、すなわち、IIMU が TP 発現量を正確に描出可能なイメージング剤であり、IIMU を用いる TP 画像化によって、がんを初めとする各種疾患の重症度診断やその治療の効果予測が可能であることを、前臨床動物実験で実証することを目的として以下の検討を行なった。

- 1) ^{123}I -IIMU 標識合成条件 (中和条件、塩交換条件など) の最適化検討を行なった。その結果、これまでに、中和条件、塩交換条件を含む標識合成条件、及び精製条件の設定をほぼ終了し、現在再現性の確認を行なっている。
- 2) IIMU が TP 発現量を正確に描出可能なイメージング剤であることをさらに検証するため、非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) モデルマウスにおいて ^{125}I -IIMU の生体内分布解析を行った。その結果、 ^{125}I -IIMU は肝臓中の TP の発現量に応じた肝臓集積を示すことが示された。

また、福島県立医科大学先端臨床研究センターにおける動物用 SPECT イメージング設備の確認を行なった。今後は、IIMU を用いる TP 画像化によって、5-FU やそのプロドラッグによるがん治療の効果予測が可能であることを実証する。

発表論文

なし

重 6-9

ルテチウム-177 標識抗体を利用したがん治療薬の開発

研究組織

共同研究代表者：花岡 宏史

(群馬大学大学院医学系研究科：特任准教授)

共同研究者：山口 藍子

(群馬大学大学院医学系研究科：特任助教)

受入研究代表者：織内 昇

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

細胞殺傷性の β 線を放出するルテチウム-177 (Lu-177) は、適度な半減期 (6.7 日) を有し、 γ 線による体内分布の画像化も可能であることから、RI 内用療法に用いる放射性核種として注目されている。しかしながら我が国においては、入手が容易ではなく、使用可能な施設も限られていることから、Lu-177 を用いた研究はほとんど行われていない。そこで福島県立医科大学が保有するサイクロトロンを利用して Lu-177 を製造し、我々が行っている Lu-177 標識抗体を利用したがん治療薬の開発研究を推進することを計画した。福島県立医大にて打ち合わせを行い、Lu-177 の試験製造を行ったが、製造の合理性、経済性を考慮し、平成 28 年度は Lu-177 製造を行わず、また市販の Lu-177 も高価であるため、まずは基礎検討として、安価で Lu-177 と同じキレート剤を用いて標識可能な In-111 を用いて実験を行った。臨床に用いられている血管内皮細胞増殖因子 VEGF に対する抗体『ベバシズマブ』にキレート剤として DTPA 誘導体を結合し、In-111 で標識を行った。大腸がん細胞株を移植した担がんモデルマウスに In-111 標識ベバシズマブを投与し、体内動態および腫瘍集積性を検討したところ、高い腫瘍集積性と滞留性を示した。滞留性が高いことから、半減期の長い Lu-177 を用いた治療が有効であると考えられる。

今後は In-111 標識抗体を用いたさらなる検討を行うとともに、実際に Lu-177 標識抗体を用いた治療実験および福島県立医科大学が保有している動物用 SPECT 装置を用いて、腫瘍集積性および腫瘍内放射能分布を生存状態で評価することで、Lu-177 を用いた RI 内用療法の有用性を評価する予定である。

発表論文

該当なし

重 6-10

アポトーシス関連タンパク質 BCL-2 阻害剤の放射免疫療法に与える影響

研究組織

共同研究代表者：山口 藍子

(群大院医バイオイメージング情報解析学：特任助教)

共同研究者：花岡 宏史

(群大院医バイオイメージング情報解析学：特任准教授)

受入研究代表者：織内 昇

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

BCL-2 関連タンパク質の高発現は、アポトーシス耐性を誘導し、がんの治療抵抗性の要因のひとつとなっている。近年、BCL-2 阻害剤の併用により抗がん剤や外照射治療に対する抵抗性を改善できることが報告されている。そこで、BCL-2 阻害剤と放射免疫療法との併用効果を検討する目的で、福島県立医科大学で製造される種々の治療用 RI を使用して、BCL-2 阻害剤の放射免疫療法に与える影響および放射線の線質との関連について検証する共同研究を計画した。

本研究では、様々ながんで高発現することが知られている BCL-2 関連タンパク『MCL-1』に対して阻害能を有するペプチドを用いる。群馬大学所有のペプチド合成装置を用いて合成条件検討を行い、目的とする阻害ペプチドを得た。さらに、非放射性のヨウ素を用いて、ヨウ素標識ペプチドの合成条件検討を行った。その結果、樹脂上に結合した脱保護前のペプチドにヨウ素標識活性エステルを反応させることで目的とするヨウ素標識ペプチドが得られることが明らかとなった。今後は MCL-1 高発現細胞株を選定し、放射性ヨウ素標識ペプチドを用いて、in vitro での標的分子への結合能および細胞への取込みを評価する。また、福島県立医科大学で製造された β 線放出核種または α 線放出核種で標識した分子の細胞殺傷能に対して、阻害ペプチドが与える影響を検討する。In vitro において阻害ペプチドの治療効果増強作用が認められた場合、担癌マウスを用いて in vivo における治療効果増強作用も評価する。

発表論文

なし

F-1

コンディショナルノックアウトマウスを用いた破骨細胞における Cas の機能解析

研究組織

代 表 者：自見 英治郎

(九州歯科大学 分子情報生化学分野：教授)

共同研究者：古株 彰一郎

(九州歯科大学 分子情報生化学分野：准教授)

松原 琢磨

(九州歯科大学 分子情報生化学分野：助教)

受入研究者：本田 浩章

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

【研究の概要】

c-src 欠損マウスは破骨細胞が存在するものの骨吸収不全に似る大理石骨病を呈することから、*c-Src* は「活性化」に関わる重要な因子である。我々は、*c-Src* の下流で機能するアダプター分子として p130Cas (Crk-associated substrate) を同定し、破骨細胞特異的 p130Cas 欠損 (OC-p130CasKO) マウスが *c-src* 欠損マウス同様に骨吸収不全による大理石骨病を呈することを明らかにした。そこで本研究では、*c-Src*-p130Cas axis に関わる破骨細胞の「活性化」分子を同定することを目指す。

【結果】

OC-p130CasKO マウス由来の破骨細胞に FLAG タグを付加した野生型 p130Cas または p130Cas が他分子と会合するのに重要な SH3 ドメインを欠失した変異体 (p130Cas・SH2) を遺伝子導入し、抗 FLAG 抗体で免疫沈降法をおこない、野生型 p130Cas と強く会合する分子を探索し PPP1r18, Bif-1 を同定した。

PPP1r18 は *c-src* や p130Cas と会合したが、破骨細胞分化に伴って発現が低下した。PPP1r18 の発現を抑制するとアクチンリングを有する破骨細胞の割合が増加し、PPP1r18 を過剰発現させるとアクチンリングを有する破骨細胞の割合が減少した。PPP1r18 はホスファターゼ PP1 と会合するが、この会合部位を欠失した変異体では PPP1r18 によるアクチンリング形成の抑制が解除された。

一方、shRNA を用いて Bif-1 の発現を破骨細胞前駆細胞で抑制するとアクチンリングを有する破骨細胞の割合が減少した。しかし、Bif-1 を破骨細胞前駆細胞で過剰発現すると破骨細胞の apoptosis が増加した。また Bif-1 欠損マウスでは破骨細胞は認められたものの、骨量の増加が認め

られた。

以上の結果より、PPP1r18 は PP1 をリクルートすることで破骨細胞のアクチンリング形成及び骨吸収を負に制御すると考えられる。Bif-1 は破骨細胞の骨吸収と細胞死に関与する可能性が示唆された。

【今後の展望】

培養破骨細胞を用いて PPP1r18 の機能を明らかにできたので、現在論文を作成中である。Bif-1 に関しては海外の研究室との共同研究が成立し、5 月中にから Bif-1 欠損マウスを搬入する予定である。次年度中には骨吸収における Bif-1 の機能を明らかにできると思われる。

発表論文

なし

F-2

コンディショナルノックアウトマウスを用いた歯の発生における Cas の機能解析

研究組織

共同研究代表者：中富 千尋

(九州歯科大学分子情報生化学分野:大学院生)

共同研究者：自見 英治郎

(九州大学大学院歯学研究院OBT研究センター:教授)

受入研究代表者：本田 浩章

(広島大学原爆放射線医科学研究所:教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

アダプタータンパク質である p130Cas は唾液腺や腎臓などの上皮間葉相互作用によって形成される器官に発現することが分かっており、このことから p130Cas が形態形成及び文化に重要な分子の一つである可能性が考えられる。本研究では上皮間葉相互作用により形成される歯の形成過程における p130Cas の役割を明らかにすることを目的とした。

野生型マウス切歯における p130Cas の発現領域を組織免疫染色法により検討したところ、p130Cas は切歯形成端周囲から成熟期エナメル芽細胞にかけて広範に発現が認められた。

そこで上皮細胞特異的に p130Cas を欠損したコンディショナルノックアウトマウス (p130Cas^{fl/fl;K14Cre}) を作成し解析したところ、p130Cas^{fl/fl;K14Cre} マウス切歯においては、表面の白濁および先端の破折といった、エナメル質形成不全症様の表現型が認められた。さらに μ CT 解析、EPMA 解析を行ったところ、p130Cas^{fl/fl;K14Cre} マウスでは切歯形成端側における石灰化度の低下、Ca、P、Mg 等のミネラル沈着に低下が認められた。また、組織学的にエナメル芽細胞の形態を解析したところ、p130Cas^{fl/fl;K14Cre} マウスでは成熟期エナメル芽細胞の一部に極性の乱れが生じていることが明らかになった。

以上のことから、p130Cas はエナメル芽細胞の分化・成熟に何らかの役割を担っており、エナメル質の成熟に重要である可能性が示唆された。

今後は、マウス切歯の器官培養および、単離した初代エナメル芽細胞を用いて細胞内情報伝達機構を検討することにより、p130Cas がどのようなメカニズムでエナメル芽細胞の分化・成熟を制御しているかを明らかにする。

発表論文

なし

F-3

ヒストン脱メチル化酵素 *Jmjd3* による T 細胞免疫応答制御機構の解析

研究組織

共同研究代表者：山下 政克

(愛媛大学大学院医学系研究科 免疫学講座:教授)

共同研究者：桑原 誠

(愛媛大学大学院医学系研究科 免疫学講座:助教)

鈴木 淳平

(愛媛大学大学院医学系研究科 血液・免疫・感染症内科学講座:助教)

受入研究代表者：本田 浩章

(広島大学原爆放射線医科学研究所:教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本共同研究の目的は、原爆放射線医学研究所疾患モデル解析研究分野の本田浩章先生らが作製した *Jmjd3*^{fllox/fllox} マウスを CD4-Cre トランスジェニックマウスと交配することで T 細胞特異的 *Jmjd3* 欠損マウス (T-*Jmjd3* cKO) を作製し、T 細胞分化・機能における *Jmjd3* の役割を明らかにすることにある。昨年度までの解析から、T-*Jmjd3* cKO では T 細胞の胸腺内分化に変化は認められず、末梢 T 細胞も正常に分化することが分かっている。そこで今年度は、T-*Jmjd3* cKO マウスにおける抗腫瘍活性について検討した。マウス胸腺腫の皮下移植モデルを用いた解析から、T-*Jmjd3* cKO マウスで抗腫瘍活性が有意に低下していることが明らかとなった。現在、そのメカニズム解析を進めている。

次に、メモリー CD8 T 細胞への分化について検討するため、OVA 特異的 TCR トランスジェニックマウスである OTI トランスジェニックマウスと交配し解析を行なったが、*Jmjd3* が存在しない場合でも、メモリー CD8 T 細胞は正常に分化することが分かった。

今後は、T 細胞依存的抗腫瘍活性における *Jmjd3* についてさらに解析を進める予定である。

発表論文

なし

F-4

アレルギー性気道炎症における A20 の役割

研究組織

共同研究代表者：中島 裕史

(千葉大学大学院医学研究院 アレルギー・臨床免疫学:教授)

共同研究者：玉地 智宏

(千葉大学大学院医学研究院 アレルギー・臨床免疫学:助教)

受入研究代表者：本田 浩章

(広島大学原爆放射線医科学研究所:教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

A20 (TNFAIP3) はユビキチン修飾蛋白であり、代表的なターゲットとして NF-κB シグナルを制御することが知られている。SLE や Crohn 病などの疾患感受性遺伝子であることが示されているのに加え、近年喘息患者の気道上皮細胞において A20 の発現が低下していることや、TNFAIP3 の SNP が気管支喘息のリスク因子になることが報告されている。しかしながら、気管支喘息においてその病態形成のキープレイヤーである T 細胞における A20 の役割は依然として不明である。そこで本共同研究では、貴施設で作成された A20^{fl/fl} マウスを用いて、T 細胞特異的に A20 を欠損したマウスを作成し解析することで、A20 のヘルパー T 細胞分化および、気管支喘息病態における役割の解明を目的とする。

House dust mite を経気道投与する喘息モデルの解析を行った結果、CD4-CreA20^{fl/fl} マウスはコントロール群に比して、アレルギー性気道炎症の増悪を認めた。また、CD4-CreA20^{fl/fl} マウスから Naive CD4⁺T 細胞を単離し、in vitro でのヘルパー T 細胞分化を比較したところ、Th2 培養条件下にて、IL-5、IL-13 産生 CD4⁺T 細胞がコントロールに比して増加することが示された。今後これらのメカニズムに関する検討をすすめていく予定である。

発表論文

なし

F-5

慢性腎臓病における Cas の意義の検討

研究組織

共同研究代表者：横井 秀基

(京都大学医学研究科：講師)

共同研究者：澤田 泰宏

(名戸ヶ谷病院ロコモティブシンドローム研究所：部長)

受入研究代表者：本田 浩章

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

Cas (Crk associated substrate) は、細胞骨格に関連した細胞の物理的環境の感知機構 (細胞のメカノセンサー) として機能している。しかし、Cas のノックアウトマウスは胎生致死であるため、その成体における機能は不明のままである。p130Cas はユビキタスに発現し、また、NF- κ B 活性を抑制するという知見を得ており、Cas が慢性腎臓病状態において特に糸球体病変における役割を解析する。さらに、糸球体上皮細胞特異的に p130Cas の発現を欠失したマウスを作製することにより、メカニカルストレスと腎機能制御の関連を明らかにする。

本研究成果としては、ポドサイト特異的 Cas ノックアウトマウスは正常に出生し、成体まで発育した。今後、本マウスの腎病変の解析を行う。

発表論文

なし

F-6

骨格筋細胞を標的とした DNA メチル化制御の解明

研究組織

共同研究代表者：亀井 康富

(京都府立大学大学院：教授)

受入研究代表者：小野 悠介

(長崎大学原爆後障害医療研究所：講師)

研究内容・研究成果・今後の展望等

骨格筋は人体の中で、最も優れた再生能力を有する組織の一つである。この再生を可能にしているのが骨格筋幹細胞のサテライト細胞である。骨格筋が損傷を受けるとサテライト細胞は活性化し、増殖・分化を経て新たな筋線維を形成する。マウスを尾部懸垂させ脚の負荷をなくすと筋損傷後の再生が遅延することが報告されているが、そのメカニズムは不明である。本研究では、不活動時に発現増加する FOXO1 が筋再生遅延の原因ではないかと考え、筋芽細胞と遺伝子改変マウスを用いて筋再生遅延における FOXO1 の寄与について調べた。その結果、C2C12 (FOXO1-3A-ER) 筋芽細胞の TAM 処理群で p57 及び Gadd45 α の mRNA レベルが増加し、増殖能の低下が見られた。ゆえに、FOXO1 の活性化によって筋芽細胞の増殖が抑制されることが示された。次に不活動モデルとして FOXO1-Tg マウス及び野生型 (WT) マウスで筋損傷を誘導したところ、Tg マウスで筋重量、筋断面積の再生遅延が見られた。このことから、FOXO1 は骨格筋の再生を阻害している可能性が示唆された。C2C12 とマウス筋損傷実験の結果から、FOXO1 による筋芽細胞の増殖抑制が不活動時における骨格筋再生遅延の原因の 1 つである可能性が示唆された。今後、FOXO1 が DNA メチル化によって制御される可能性について検討を行う。

発表論文

Yamashita A, Hatazawa Y, Hirose Y, Ono Y, Kamei Y. FOXO1 delays skeletal muscle regeneration and suppresses myoblast proliferation.

Biosci Biotechnol Biochem. 2016; 80: 1531-5.

F-7

トランスサイレンアミロイドーシスの病態解析

研究組織

共同研究代表者：三隅 洋平

(熊本大学 神経内科学：診療講師)

共同研究者：安東 由喜雄

(熊本大学 神経内科学：教授)

植田 光晴

(熊本大学 神経内科学：講師)

松井 啓隆

(熊本大学 臨床病態解析学：教授)

受入研究代表者：金井 昭教

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、遺伝性トランスサイレン (TTR) アミロイドーシスの病態において、患者集積地と非集積地の患者の発症年齢、浸透率、臨床像が大きく異なるため、このような相違の原因となる TTR の遺伝子変異以外の遺伝的要因を特定することを目的とした。本症の臨床診断を受けている成人患者 (若年発症者 4 名、高齢発症者 2 名) から末梢血を採取し、DNA の抽出・精製を行い、広島大学原爆放射線医科学研究所において Exome 解析を実施し、複数の候補となる遺伝子変異の抽出を行った。今後は、候補遺伝子について詳細な検討を進め、本症の病態を修飾する遺伝的因子の特定を行う。本研究により、本症の発症に関わる病態が解明でき、さらには新規治療薬の開発に有用な知見が得られる可能性がある。

発表論文

該当なし

F-8

筋肉・骨などの運動器における Cas の役割の検討

研究組織

代表者：宮崎 剛

(地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター研究所：研究員)

共同研究者：澤田 泰宏

(国立障害者リハビリテーションセンター研究所・運動機能系障害研究部：部長)

原田 伊知郎

(名戸ヶ谷病院メカノメディスン研究室：主任研究員)

吉野 大輔

(東北大学流体科学研究所：助教)

市原 克則

(東京大学大学院医学系研究科整形外科学：助教)

吉村 耕一

(山口大学大学院医学系研究科：教授 (特命))

前川 貴郊

(国立障害者リハビリテーションセンター研究所・運動機能系障害研究部：流動研究員)

斎藤 久美子

(国立障害者リハビリテーションセンター研究所・運動機能系障害研究部：流動研究員)

受入研究者：本田 浩章

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

<研究内容>

Cas (Crk associated substrate) は、細胞骨格に関連した細胞の物理的環境の感知機構 (細胞のメカノセンサー) として機能している。しかし、Cas のノックアウトマウスは胎生致死であるため、その成体における機能は不明のままである。p130Cas が筋組織の分化制御に関わり、また、NF-κB 活性を抑制するという知見を得ており、Cas の加齢性筋萎縮・炎症における役割を解析する。さらに、骨細胞特異的に p130Cas の発現を欠失したマウスを作製することにより、メカニカルストレスと骨代謝制御の関連を明らかにする。

<研究成果>

まず、骨細胞における Cas 機能について、骨細胞にメカノストレスを与えることによる解析を行なった。その結

果、Cas はメカノストレス依存性に活性化を受け、この経路に関与していることが明らかとなった。更に、Cas コンディショナルノックアウトマウスと骨細胞で Cre を発現する Dmpl-Cre マウスを交配し、骨細胞特異的に Cas を欠失したマウスを作製したところ、このマウスはコントロールマウスに比較して骨量の減少を認めた。

<今後の展望>

我々が作製したマウスは、骨粗鬆症の良いモデルマウスであり、その予防法や治療法開発に貢献すると考えられる。現在、詳しい分子機構の解明を行っており、近日中に論文を作製・投稿予定である。

発表論文：

論文投稿中

F-9

ストレスに適応する行動の神経回路基盤

研究組織

共同研究代表者：相澤 秀紀

(広島大学医歯薬保健学研究院：教授)

共同研究者：伊藤 日加瑠

(広島大学医歯薬保健学研究院：助教)

崔 万鵬

(広島大学医歯薬保健学研究院：特任助教)

受入研究代表者：川上 秀史

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本共同研究の目的は、環境変化に伴うストレスに適応する動物の行動制御機構を明らかにすることである。具体的には、ドーパミンやセロトニン等の神経伝達物質がストレスに対処する行動パターンに与える影響をマウスをモデルとして調べる。

慢性社会的敗北ストレスを負荷されたマウスは社会的回避行動やショ糖嗜好性試験におけるアンヘドニア様の行動異常をとるようになった。また、ミクログリアに発現する TSPO 分子を標的とした新たな抗ストレス薬の候補物質をマウスへ経口投与し、その投与方法の最適化をおこなった。

恐怖や不安を引き起こす環境の変化にさらされた動物の行動には個体差があり、これらのストレスへの適応不全は QOL を大きく損ねる。本研究の成果は、このようなストレスへの対処行動に重要な役割を果たす物質や神経回路を同定するものであり、今後あらたな抗ストレス薬の開発により PTSD やうつ病、適応障害などの精神・神経疾患の治療標的を提起するものとなると期待される。

発表論文

なし

F-10

Jmjd3 の大脳新皮質発生における役割の解析

研究組織

共同研究代表者：後藤 由季子

(東京大学大学院薬学系研究科：教授)

共同研究者：岸 雄介

(東京大学大学院薬学系研究科：助教)

受入研究代表者：本田 浩章

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

大脳新皮質は、脳のなかでも記憶や感情、思考などを司る重要な器官であり、その成り立ちを知ることは重要である。大脳新皮質は、様々なニューロンとグリア細胞で構成されるが、いずれもそのほとんどが発生期神経幹細胞から産生される。そのため、大脳新皮質発生を理解するためには、神経幹細胞の分化運命がどのように制御されているかを知ることが重要となる。これまでに我々は、H3K27me3 修飾を介して転写を抑制する PcG 複合体がその分化運命制御に重要であることを示してきた。そこで、PcG 複合体とは逆に、H3K27me3 修飾を外す役割がある Jmjd3 も重要な役割を果たしていると考えた。本共同研究では広島大学原医研の本田教授が作成した Jmjd3 の flox マウスを用いて、神経系特異的なコンディショナル KO マウスを作成し、大脳新皮質発生における同遺伝子の役割について詳細に検討する。これまでに、Sox1-Cre にて Jmjd3 を KO すると胎生致死になることが示唆されている。

今後は、コンディショナル KO マウスの胎児における大脳新皮質発生への影響を調べ、胎生致死の原因と Jmjd3 の役割を明らかにすることを目指す。

発表論文

F-11

コンディショナルノックアウトマウスを用いた膀胱における Cas の機能解析

研究組織

共同研究代表者：武藤 智

(帝京大学医学部泌尿器科)

共同研究者：堀江 重郎

(順天堂大学医学部泌尿器科)

澤田 泰宏

(ロコモティブシンドローム研究所)

井手 久満

(帝京大学医学部泌尿器科)

受入研究代表者：本田 浩章

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

<研究内容>

Cas はアクチン制御を介して細胞骨格形成の中心的役割を担うことにより、細胞分化、細胞増殖、細胞癌化など多彩な細胞機能に関わるアダプター分子である。しかし、Cas のノックアウトマウスは胎生致死であるため、その成体における機能は不明のままである。本共同研究では、Cas のコンディショナルノックアウトマウスを用いて膀胱特異的に Cas を欠失したマウスを作製することにより、Cas の膀胱における機能解析を行う。

<研究成果>

膀胱特異的に発現する Uroplakin II をプロモーターとして用い、Cre を膀胱特異的に発現する UPIICre マウスと Floxed-P130Cas トランスジェニックマウスを交配させ、UPIICre/p130Cas ヘテロマウスを作成した。作成した UPIICre/p130Cas ヘテロマウス同士を交配させ、膀胱特異的ホモ p130Cas 遺伝子欠損マウス Pcas/Ucre を作成した。現在まで Pcas/Ucre マウスを生後 40 週まで観察しているが有意な変化は認めていない。また、20 週までの Pcas/Ucre マウスの一部の膀胱組織を検討したが、腫瘍発現などの異常を認めない。

<今後の展望>

今後膀胱機能解析を進めると共に、膀胱機能や膀胱腫瘍発生に関与する分子生物学的解析を行っていく。現在膀胱化学発がん実験を行なう予定である。膀胱において Cas を欠失したマウスを作製することにより、膀胱の発生・維持や腫瘍化における Cas の生物学的機能が明らかになると期待される。

発表論文

なし

F-12

アスコルビン酸の新たな機能探索

研究組織

共同研究代表者：土生 敏行

(武庫川女子大学食物栄養学科：准教授)

共同研究者：小林 香里

(武庫川女子大学食物栄養学科：学生)

戸川 久瑠美

(武庫川女子大学食物栄養学科：学生)

受入研究代表者：長町 安希子

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

人間はビタミンとしてアスコルビン酸を食事より摂取している。しかし多くの生物ではその合成が可能である。我々は、この酵素 Gulonolactone oxidase (Gulo) 機能を破壊したマウスを作成し、ヒトと同様に合成不可能な状態でアスコルビン酸の生理作用をさらに明らかにすることを第一の目標とした。近年の研究報告では、iPS 細胞の特定組織への分化の効率化や大腸がん由来のがん細胞特異的増殖抑制効果など新たな機能が脚光を浴びている。細胞を用いた実験より、脂肪酸の取込みや脂肪細胞への分化等アスコルビン酸の新たな現象への関与を明らかにしている。よってヒト化したマウス個体を用いたその探索に期待している。

原爆放射線医学研究所疾患モデル解析研究分野の本田浩章先生らに CRISPR/Cas システムを用いて受精卵へ gRNA/Cas を打ち込み、偽妊娠マウスへ戻し F1 マウスを作製し、genotype の決定を行っていただいた。そのうち遺伝子破壊マウスを武庫川女子大学動物実験施設に搬入し、アスコルビン酸合成不可マウスの解析を行うために、交配により繁殖している。我々の解析により、体重維持や大腸がんの腫瘍抑制にアスコルビン酸が有用であることを見出している。

アスコルビン酸は多くの実験動物が合成可能なためその機能が不明な点が多い。また欠乏症では壊血病をきたすが、実験動物はその再現は取れていない。このことより Gulo 遺伝子破壊マウスの作製はそれらのモデルとしては当然、アスコルビン酸の新たな機能探索に役立てることが可能となる点で期待される。

発表論文

PTP1B controls non-mitochondrial oxygen consumption by regulating RNF213 to promote tumour survival

during hypoxia

Robert S. Banh, Caterina Iorio, Richard Marcotte, Yang Xu, Dan Cojocari, Anas Abdel Rahman, Judy Pawling, Wei Zhang, Ankit Sinha, Christopher M. Rose, Marta Isasa, Shuang Zhang, Ronald Wu, Carl Virtanen, Toshiaki Hitomi, Toshiyuki Habu, Sachdev S. Sidhu, Akio Koizumi, Sarah E. Wilkins, Thomas Kislinger, Steven P. Gygi, Christopher J. Schofield, James W. Dennis, Bradley G. Wouters and Benjamin G. Neel.

Nature Cell Biology 18(7), 803-13 (2016)

RNF213 rare variants in Slovakian and Czech moyamoya disease patients

Hatasu Kobayashi, Miroslav Brozman, Kateina Kyselova, DaaViszlayova, Takaaki Morimoto, Martin Roubec, David koloudik, Andrea Petroviová, Dominik Juskani, Jozef Strauss, Marian Halaj, Peter Kurray, Marian Hranai, Koji Harada, Sumiko Inoue, Toshiyuki Habu, Roman Herzig, Akio Koizumi

PLOS One 11(10) e0164759 (2016)

F-13

次世代シーケンサーを用いた口唇裂・口蓋裂の遺伝子解析

研究組織

共同研究代表者：柴野 正康

(東京歯科大学：大学院生)

受入研究代表者：吉浦 孝一郎

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、口唇裂・口蓋裂の発症に関与する遺伝子を同定するため、日本人の口唇裂・口蓋裂患者を対象に、次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析を行った。

対象は日本人の症候群を持たない唇顎口蓋裂および口蓋裂を伴わない唇顎裂 (NSCL ± P) 患者 78 人と、症候群を持たない口蓋裂単独 (NCP) 患者 14 人および、採取可能であった両親 148 人とし、静脈血から DNA を抽出した。解析を行った遺伝子は、*IRF6*、*TP63*、*WNT5A*、*MSX1*、*TFAP2A*、*PAX9*、*WNT9B*、*MN1*、*DLX3*、*DLX4* とし、これら 10 遺伝子のエキソンと、イントロンの保存領域を含めた 153Kbp に対し、Illumina HiSeq 2500 を用いて遺伝子解析を行った。7 遺伝子 (*DLX4*、*IRF6*、*WNT5A*、*TFAP2A*、*WNT9B*、*TP63*、*PAX9*) から一塩基多様性 (SNVs) を検出した。これらの SNVs は、遺伝情報に存在しない新規の SNVs であった。このうち 2 名の NSCL ± P 患者にそれぞれ *DLX4* の exon2 と *IRF6* の exon4 にヘテロ接合ミスセンス変異を認めた。*DLX4* のヘテロ接合ミスセンス変異 c.359C>T (Pro120Leu) はホメオドメインに認め、保存領域であった。この変異は In-silico 解析の結果、有害な変異であることが予測された。*IRF6* のヘテロ接合ミスセンス変異 c.313T>C (Met105Val) は DNA 結合領域の変異であった。*TFAP2A*、*WNT5A*、*WNT9B*、*TP63*、*PAX9* の SNVs は非コーディング領域に認め、このうち *TFAP2A* と *WNT5A* の SNVs は保存領域であった。*WNT9B*、*TP63*、*PAX9* に認めた SNVs は非コーディング領域で保存度は低かった。これらの 7 つの SNVs は両親の DNA が採取できなかったため、denovo mutation または transmitted allele であるか確定はできなかった。日本人 NSCL ± P に *DLX4* のホメオドメイン領域に変異を認めた報告は初めてである。この領域における変異は口唇裂・口蓋裂の発症に関与することが考えられた。

口唇裂・口蓋裂の発症に関与する単一遺伝子の同定はで

きておらず、本研究の結果からも rare variant によって発症することを裏付ける結果となった。アジア人種における口唇裂・口蓋裂の発症率は他の人種に比べ高く、日本人口唇裂・口蓋裂の発症に関与する遺伝子の存在が考えられる。今後は日本人口唇裂・口蓋裂のエキソーム解析を含めた遺伝子解析を行うことで、感受性遺伝子の同定ができると考える。

発表論文

本研究成果は Cleft Palate-Craniofacial Journal に投稿予定である。

F-14

Electron microscopic study in human adenomyosis

Research Organization :

Representative Joint Researcher:

- (1) Dr. Khaleque N Khan
(Associate Professor, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto)
- (2) Dr. Jo Kitawaki
(Professor, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto)

Representative Resident Researcher:

- (1) Dr. Masahiro Nakashima
(Professor, Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University, Nagasaki)
- (2) Dr. Katsuya Matsuda
(Assistant Professor, Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University, Nagasaki)

Contents, Results, and Prospects of Study:

We investigated the biological and structural changes of eutopic endometria in women with adenomyosis. Tissue infiltration of macrophages and TUNEL-positive apoptotic cells were significantly higher in the endometria and myometria of women with adenomyosis than in control women. Our preliminary electron microscopic study with small samples indicated that number of microvilli appears to decrease and area of condensed chromatin appears to increase in the ipsilateral side and fundus comparing to contralateral side of endometria derived from women with focal adenomyosis. Increased tissue inflammatory reaction and abnormal architectural change of endometria may be associated with adverse reproductive outcome in women with adenomyosis. Our ongoing study may further strengthen this issue.

Presented papers:

- (1) Khan KN, Kitajima M, Hiraki K, Fujishita A, Nakashima M, Masuzaki H. Involvement of hepatocyte growth factor-induced epithelial-mesenchymal transition in human adenomyosis. Biol Reprod 2015; 92(2): 35,1-11.

- (2) Khan KN, Fujishita A, Kitajima M, Masuzaki H, Nakashima M, Kitawaki J. Biological differences between functionalis and basalis endometria in women with and without adenomyosis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2016; 203: 49-55.

F-15

53BP1を用いた非アルコール性脂肪性肝炎における遺伝子不安定性の検討

研究組織

共同研究代表者：赤澤 祐子

(長崎大学医歯薬学総合研究科・病理学：講師)

共同研究者：松田 勝也

(長崎大学原爆後障害医療研究所腫瘍・診断病理学：助教)

受入研究代表者：中島 正洋

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

非アルコール性脂肪肝疾患 (NAFLD) の発癌リスクアプローチは確立されていない。P53 binding protein 1 (53BP1) は DNA 損傷部位に集積するレスキュータンパクである。53BP1 は放射線刺激や多段階発癌の過程で核内フォーカスを形成することから DNA instability のマーカーとして報告されている。我々は 53BP1 を用いて NAFLD 病理組織における DNA 損傷応答の検討を行った。

ラット初代培養肝細胞に遊離脂肪酸を添加し、蛍光染色にて 53BP1 フォーカス発現を検討した。50 人の正常および NAFLD 患者に対し肝生検標本における肝細胞の 53BP1 発現を検討した。核内フォーカス 3 個以上を異常フォーカス、直径 1 μm のフォーカスを large focus と定義し、検討を行った (Nakashima et al, 2008, Histopathology. 2011)。飽和脂肪酸 200 μm で刺激した培養肝細胞では 53BP1 フォーカス数の増加が見られた。肝生検組織では、正常肝および単純性脂肪肝と比較し、NASH 患者では有意に異常フォーカスが増加していた。53BP1 のフォーカスは一部 γH2AX と co-localize していた。NAFLD (n=40) の病理学的グレード分類 (NAS score) の解析では、53BP1 異常フォーカスは線維化・小葉内炎症・肝細胞の風船化スコアと有意な相関関係を示した。臨床検査所見では、53BP1 異常フォーカス血小板数との有意な負の相関が見られた。

NASH および飽和脂肪酸により刺激された肝細胞において、DNA 二重鎖切断が惹起されていることが示唆された。53BP1 は NAFLD 肝における炎症および線維化の程度と関連しており、発癌のリスクマーカーなどに有用である可能性があると考えられた。

発表論文

なし

F-16

血液悪性疾患におけるヒストン脱メチル化酵素の役割についての解明

研究組織

共同研究代表者：河原 真大

(滋賀医科大学内科学講座(血液内科):講師)

共同研究者：辰巳 剛一

(京都大学大学院医学研究科:大学院生)

細羽 桜

(滋賀医科大学内科学講座(血液内科):医員)

受入研究代表者：金井 昭教

(広島大学原爆放射線医科学研究所:助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究では、ヒストン修飾酵素 LSD1 阻害剤が白血病や骨髄異形成症候群に効果を示すメカニズムを明らかにする目的で、ヒストン修飾の阻害剤による変化について解析を行った。その結果、複数の造血分化関連遺伝子のスーパーエンハンサーが活性化して、これら遺伝子の発現が回復することを明らかにした。今後は、こういったスーパーエンハンサーの異常だけで疾患が生じるのかを確認すると共に、実際の臨床検体において、異常に抑制されているスーパーエンハンサーの存在を明らかにしていく予定である。

発表論文

- 1) Sugino N, Kawahara M*, Tatsumi G, Kanai A, Matsui H, Yamamoto R, Nagai Y, Fujii S, Shimazu Y, Hishizawa M, Inaba T, Andoh A, Suzuki T, and Takaori-Kondo A. (* correspondence) A novel LSD1 inhibitor NCD38 ameliorates MDS-related leukemia with complex karyotype by attenuating leukemia programs via activating super-enhancers. Leukemia doi: 10.1038/leu.2017.59(2017)
- 2) Katsurada T, Kawabata H, Kawabata D, Kawahara M, Nakabo Y, Takaori-Kondo A, Yoshida Y. A Japanese family with X-linked sideroblastic anemia affecting females and manifesting as macrocytic anemia. Int J Hematol. 103: 713-7. (2016)
- 3) Shimazu Y, Shimazu Y, Hishizawa M, Hamaguchi M, Nagai Y, Sugino N, Fujii S, Kawahara M, Kadowaki N, Nishikawa H, Sakaguchi S, Takaori-Kondo A. Hypomethylation of the Treg-Specific Demethylated Region in FOXP3 Is a Hallmark of the Regulatory

T-cell Subtype in Adult T-cell Leukemia. Cancer Immunol Res. 4: 136-45. (2016)

F-17

中枢性摂食に関連する膜受容体の機能解析

研究組織

共同研究代表者：斎藤 祐見子

(広島大学総合科学研究科：教授)

共同研究者：小林 勇喜

(広島大学総合科学研究科：助教)

友重 桜子

(広島大学総合科学研究科：学部4年生)

受入研究代表者：松浦 伸也

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

受入研究者：宮本 達雄

(長崎大学原爆後障害医療研究所：講師)

研究内容・研究成果・今後の展望等

[背景と目的]

1次繊毛は周辺シグナルを効率良く検知して細胞内へ伝達するアンテナとして働くと考えられている。その生理的重要性は、繊毛の欠損や機能不全が多様な疾患を引き起こすことから明らかである。繊毛が持つバイオセンサー機能は、繊毛表面に発現する膜受容体を介して細胞内へと伝達される。神経細胞の場合、1次繊毛内部ではシナプスや細胞膜とは異なる特殊なシグナリング連関が展開されているのか、さらに、そのバランス破綻と生理的破綻はどのように関連するのか不明点が多い。そこで、中枢神経細胞1次繊毛に局在するG蛋白質結合型受容体(GPCR)の中で、摂食と深く関連するメラニン凝集ホルモン(MCH)受容体(MCHR1)に焦点をあてる。MCHR1が繊毛に高発現した細胞を活用することで1次繊毛という場におけるGPCRを介した選択的情報フローを理解することを目指す。

[成果]

1次繊毛にMCHR1:EGFPが特異的に局在するRPE1クローン細胞を確立した。その細胞へnMオーダーのMCHを添加すると、細胞周期へ影響することなく、繊毛が短縮することを見出し、Gi/o-Akt系が縮退開始に深く関わることも明らかにした。繊毛縮退を引き起こすGPCRリガンドはMCH以外には報告がない。そこで、本細胞系を駆使することで、縮退に伴う細胞骨格系の動態を解析し、RNAseqによる縮退関連分子の網羅的解析に着手した。加えて、MCH添加による繊毛長変化の様子をタイムラプスにより観察し、これまで不明だった繊毛縮退における細胞生物学的現象の一端を明らかにした。

[今後の展望]

1次繊毛という場におけるMCHR1の特異なセンシング機構、すなわち、Gi/o-Akt以降のリレー経路については、RNAseqにより単離した分子群の情報に基づき、gain-of-function, loss-of-functionを活用することで関連分子を絞り込む。さらに、それらの分子について、内在性MCHR1が発現する海馬スライス培養・海馬神経の分散培養系の両方を用いることで、神経系における役割を精査する。

発表論文

Cytoskeletal-related regulation in cilia length shortening mediated via melanin-concentrating hormone receptor 1. 論文投稿中

F-18

甲状腺癌予後規定因子の同定

研究組織

共同研究代表者：矢野 洋

(長崎大学病院腫瘍外科：講師)

共同研究者：田中 彩

(長崎大学病院腫瘍外科：医員)

受入研究代表者：光武 範吏

(長崎大学原爆後障害医療研究所：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

TERT プロモーターには mutation hotspot が 2 ヶ所存在するが、その両方の変異を一度に検出でき、かつ droplet digital PCR、定量 PCR 等で使用できる LNA 蛍光プローブ、プライマーを使った実験系を立ち上げた。同時に *BRAFV600E* 変異に対するプローブ、プライマーも設計、予備実験は終了し、データが再現性良く取得できることが確認された。

今後は、実際の検体を用い、上記変異のそれぞれのアレル頻度を解析していく予定である。

発表論文

なし

F-19

インプリント座位におけるマルチメチル化異常の原因遺伝子探索

研究組織

共同研究代表者：副島 英伸

(佐賀大学医学部分子生命科学講座：教授)

共同研究者：東元 健

(佐賀大学医学部分子生命科学講座：助教)

受入研究代表者：吉浦 孝一郎

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

インプリンティング疾患 Beckwith-Wiedemann 症候群 (BWS) は 11p15.5 のメチル化異常 (KvDMR1 低メチル化あるいは H19DMR 高メチル化) が主たる原因である。しかし、これらのメチル化異常が生じる原因は不明であるため、Whole Exome Sequencing (WES) で解析することにより原因を明らかにすることを目的とした。

メチル化異常症例 18 例 (KvDMR1 低メチル化 13 例、H19DMR 高メチル化 5 例) とその両親について WES 解析を行った。その結果、10 遺伝子で候補となる variant を同定した。次年度は、それぞれの遺伝子について個別にシーケンス解析を行い、病的な variant であるかどうかを確認する。

発表論文

なし

F-20

放射性廃棄物管理と環境修復を学ぶ教育プラットフォームの開発

研究組織

共同研究代表者：小野 俊朗

(岡山大学自然生命科学研究支援センター：教授)

共同研究者：市川 康明

(岡山大学環境生命科学研究科：教授)

松井 秀樹

(岡山大学医歯薬学総合研究科：教授)

花房 直志

(岡山大学自然生命科学研究支援センター：准教授)

受入研究代表者：保田 浩志

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究では、国際原子力機関（IAEA）の指導と協力を受けて岡山大学と広島大学の共同体制のもとで放射性廃棄物管理に関する教育プログラムを開発することを目的としている。岡山大学はIAEA 原子力局との間で「放射性廃棄物分野における研究と高等教育に関する協定」を締結している。これに基づきIAEA 原子力エネルギー局が開発したe-Learning System “CLP4NET” のコンテンツ（モジュール）の提供をIAEA より受けた。受講者の専門に応じた多様なコースに使用可能なプラットフォームを構築するためにその内容を精査した。

今後は広島大学の強みである被曝医療も加えて新たなモジュールを追加し、再構成する。このモジュールは公開e-Learning System である Moodle で様々なコースに対応したプラットフォームを構築し、順次実践する。さらに日本語コースも構築する予定である。

発表論文

なし。

F-21

小児期から成人初期にかけての生活習慣が健診所見とその後の変化に及ぼす影響

研究組織

共同研究代表者：山岸 良匡

(筑波大学医学医療系：准教授)

共同研究者：佐田 みずき

(筑波大学医学医療系：客員研究員)

村井 詩子

(筑波大学大学院人間総合科学研究科：院生)

松村 拓実

(筑波大学大学院人間総合科学研究科：院生)

西連地 利己

(獨協医科大学医学部：准教授)

山海 知子

(筑波大学医学医療系：准教授)

受入研究代表者：大平 哲也

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

受入研究者：橋本 重厚

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

前田 正治

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究では、福島県民健康調査に参加する小児期から成人初期の男女を対象に、生活習慣・健診所見と、その後の健診所見の変化との関連を明らかにする。特に、循環器疾患発症の危険因子や食習慣・生活習慣の現状を明らかにし、現時点でのエビデンスが不足している小児期から成人初期について循環器疾患の予防を行うための疫学的エビデンスを得ることを目的とする。

本研究課題の遂行に向け、平成 28 年度は受入研究代表者である大平哲也教授と打ち合わせを行い、研究対象者と検討項目の選定、及び解析方針を決定した。具体的には、福島県民健康調査参加者のうち「こころの健康度・生活習慣に関する調査票」に回答し、かつ「健康診査」を受診した小学生から 20 歳代の男女を対象とし、調査票から取得した食習慣や生活習慣、また実測値の健診データから取得した身体因子と、その後の健康診査成績に基づく身体因子やその変化との関連を、混合モデル等を用いて縦断的に分析することとした。さらに、平成 28 年度に他県で実施した 20 歳代後半の一般住民を対象にした質問調査と同一の項目（食習慣や生活習慣、身体因子）について、横断的分

析の実施可能性を検討した。

今後は、順次解析を進め、これまで縦断的な調査が少なかった小児期から成人初期における食習慣や生活習慣と生活習慣病危険因子との関連を明らかにすると共に、県外他地域の一般集団と比較・検討し、福島県に特異的な健康問題と、比較的普遍的な健康問題を明らかにする。

発表論文

該当なし

F-22

ストレスや睡眠などと生活習慣病・循環器疾患の発症との関連の他地域との比較

研究組織

共同研究代表者：岡田 武夫

(大阪がん循環器病予防センター：部長)

受入研究代表者：大平 哲也

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

受入研究者：橋本 重厚

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

前田 正治

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

ストレスや睡眠、飲酒、喫煙などの生活習慣と生活習慣病（高血圧・糖尿病・高脂血症）、循環器疾患（脳卒中・心臓病）の発症の関連は広く知られているところである。我々は CIRCS 研究として大阪府、秋田県、茨城県等で循環器疾患の調査を行ってきた。今回の福島で起きた事象は、睡眠、飲酒、喫煙などの生活習慣やストレスに大きな影響を与えている。ストレスや生活習慣の状況を他の地域と比較し、さらに生活習慣病、循環器疾患の発症悪化を他の地域と比較することで、生活習慣病や循環器疾患の発症、悪化に影響を与えている因子に福島県と他の地域で違いがあるかどうかを明らかにすることを目的とした。

今年度は、「こころの健康度・生活習慣に関する調査（平成 24 年度～平成 25 年度）」に参加した福島県民の避難区域住民の調査データ結果と CIRCS 研究における大阪府、秋田県の調査データ結果の比較を行った。福島県の「こころの健康度・生活習慣に関する調査」と CIRCS 研究では、自覚的健康度、笑いの頻度、睡眠に関して同じ質問項目を採用している。

その結果、避難区域住民における平成 24 年度の日常生活上声を笑う頻度は、ほぼ毎日が 27.7%であったのに対し、秋田大阪住民では約 45%と両者の間に大きな差がみられた。同様に、自覚的健康感、睡眠についても避難区域住民においてより悪化している傾向がみられた。

今後は、生活習慣及び生活習慣病の比較を行うとともに、ストレス等の生活習慣病に及ぼす影響を地域間で比較検討する。

発表論文

なし

F-23

次世代シーケンサーを用いた先天代謝異常症のゲノム解析—原因不明疾患における病態解明—

研究組織

共同研究代表者：渡邊 順子

(久留米大学GC/MS医学応用研究施設:准教授)

共同研究者：福井 香織

(久留米大学小児科：助教)

受入研究代表者：吉浦 孝一郎

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

① 新規（未知）先天性の代謝異常およびの病態解析（乳児非アルコール性脂肪性肝炎症例）

乳児非アルコール性脂肪性肝炎症例については、一家系の遺伝子解析のみではあるが、全エキソーム解析により新規病変候補遺伝子を同定した。本症例は肝腫大と脂肪代謝異常症合併例としており、同遺伝子は糖代謝と脂質代謝の切り替え時のキーポイント遺伝子であることから、症状を充分説明しうる遺伝子と考えている。

② 新規（未知）先天性の代謝異常および先天異常の遺伝子解析

エキソーム解析により約 30 症例の未診断症例、希少疾患の遺伝子解析を行った。複数の症例において既知の遺伝子に新規変異または既知の変異を同定したが、臨床型からは診断することが困難と思われるような症例が含まれていた。これらの症例については臨床症状を再評価し、遺伝子型と表現型の相関について症例報告を予定している。

発表論文

現在、乳児非アルコール性脂肪性肝炎症例の論文を投稿中。

F-24

RNA 干渉を利用した胸部悪性腫瘍治療法の開発

研究組織

共同研究代表者：服部 登

(広島大学病院分子内科学：教授)

共同研究者：実綿 慶

(広島大学病院分子内科学：大学院生)

受入研究代表者：宮田 義浩

(広島大学原爆放射線医科学研究所：准教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

当教室ではこれまでに、転移性肺腫瘍モデルマウスに対して siRNA 微粒子製剤を経気道投与することにより、腫瘍部における遺伝子発現を抑制可能であることを明らかにしており、このたびは転移性肺腫瘍モデルマウスを作成し、同マウスに腫瘍促進遺伝子である VEGF に対する siRNA 微粒子製剤を経気道投与し、その腫瘍抑制効果を検討した。尾静脈肺転移モデルマウスに対して VEGF siRNA を経気道投与することにより、転移性肺腫瘍に対する抗腫瘍効果を得ることができた。また in vivo における siRNA 製剤の遺伝子抑制効果も確認できた。

今後は、免疫染色などでさらなる遺伝子抑制効果の確認を行っていく予定である。

発表論文

なし

F-25

A challenging study for establishment of a preoperative diagnostic method for thyroid follicular carcinoma by DNA damage response molecule 53BP1 expression

研究組織

共同研究代表者：Bolsynbekova Saltanat

(Department of Pathology, Semey
Regional Oncology Center, Kazakhstan)

受入研究代表者：中島 正洋

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

受入研究者：Mussazhanova Zhanna

(長崎大学原爆後障害医療研究所：機関研究員)

研究内容・研究成果・今後の展望等

Follicular carcinoma (FC) is the second most common type of thyroid carcinoma. The criteria for distinguishing these lesions are based on histological evidence of capsular or vascular invasion or metastasis but not on nuclear atypia like papillary thyroid carcinoma (PTC). Although fine-needle aspiration cytology (FNAC) as a preoperative diagnosis is not possible in most cases. Establishment of preoperative of follicular tumor diagnostics is one of the important challenges, but many researchers are doing a study focusing on the over-expression of the gene mutation analysis and cancer-related molecule, the real effective method in clinical has not been found up to now.

The p53-binding protein 1 (53BP1) localizes at the sites of double-strand breaks (DSB) and rapidly forms nuclear foci (NF), the presence of 53BP1 NF can be considered to be an indicator of endogenous DSBs reflecting GIN. 53BP1 NF might serve as a valuable molecular marker of GIN during carcinogenesis, which seems to be induced at the precancerous stage during thyroid, skin, lung and cervical carcinogenesis, as follicular adenoma and actinic keratosis. Thus, particularly for the possibility of preoperative diagnosis with FNAC and biopsy, we propose to analyzed the presence rate of 53BP1 NF in a series of FCs from patient.

Preoperative cytology and biopsy material from Semey Oncology center (Kazakhstan) was re-stained

for 53BP1 expression analysis and was compared with expression of 53BP1 on FFPE slides to see the efficacy of methodology in thyroid follicular tumor.

The results under the interpretation now and we continue to increase the number of cases to obtain statistically significant results. In near future, the results will be presented at the domestic and international conference.

発表論文

なし

F-26

Association of SNPs with risk for sporadic papillary thyroid carcinoma in Kazakh population.

研究組織

共同研究代表者：Espenbetova Maira

(Department of internship in general medicine,
Semey State Medical University, Kazakhstan)

受入研究代表者：中島 正洋

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

受入研究者：Mussazhanova Zhanna

(長崎大学原爆後障害医療研究所：機関研究員)

研究内容・研究成果・今後の展望等

Thyroid cancer represents approximately 1% of newly diagnosed cancers and is the most common endocrine malignancy. Although the etiology of PTC is not well characterized, it is clearly influenced by both genetic and environmental factors. Genetic predisposition plays a major role, as evidenced by case control studies. In the virtual absence of high-penetrance Mendelian-type causative genes, the genetic factors can likely be attributed to many low-penetrance DNA variants in the human genome. Recently, significant advances have been made in searching for DNA variants predisposing to PTC through GWAS and target gene studies in European populations, and replication studies in Japanese and Chinese, and two-step candidate-gene association study in Spanish population groups have demonstrated that rs965513 and rs1867277 (9q22.33), rs942889 (14q13.3), rs2439302 (8q12), rs7267944 (20q12), rs6983267 (8q24.2) and rs10136427 (14) display the association with the risk for PTC. In our study, we examined the association of these SNPs in Kazakh population in a sample of 485 sporadic PTCs (90.3% females, mean age 54.78 ± 3.3 y.o., 18-87 y.o., range) and 1008 controls (78.7% females, mean age 39.02 ± 15.8 y.o., 15-83 y.o., range). Significant associations: rs965513 ($p=1.34E-16$; OR=2.252, 95% CI 1.858 to 2.730), rs1867277 ($7.56E-06$; OR=1.519, 95% CI 1.265 to 1.825), rs944289 ($4.55E-06$; OR=1.444, 95% CI 1.210 to 1.724), rs2439302 ($p=4.087E-05$; OR=1.444, 95% CI 1.210 to 1.724), rs10136427 ($p=9.806E-03$; OR=1.303, 95% CI 1.066 to 1.594), rs7267944 ($p=0.713$; OR=1.039, 95% CI 0.847 to 1.276)

and rs6983267 ($p=0.362$, OR=1.087, 95% CI 0.909-1.299) were found in the multiplicative model of inheritance adjusted for age and sex. The results demonstrate that the frequency of risk alleles of rs965513, rs1867277, rs942889, rs2439302 and rs10136427 in Kazakh population is higher than typical Asian and European populations. But the results of rs6983267 and rs7267944 did not show the associations with PTC in Kazakh population. Our study unambiguously confirms the existence of genetic determinants of susceptibility to PTC in Kazakh population.

発表論文

なし

F-27

新規遺伝子変異の関与が疑われる免疫異常症患者における網羅的遺伝子解析と変異遺伝子の機能解析

研究組織

共同研究代表者：金澤 伸雄

(和歌山県立医科大学皮膚科：准教授)

共同研究者：水島 恒裕

(兵庫県立大学構造細胞生理学：教授)

改正 恒康

(和歌山県立医科大学生体調節機構研究部：教授)

邊見 弘明

(和歌山県立医科大学生体調節機構研究部：准教授)

加藤 喬

(和歌山県立医科大学生体調節機構研究部：学生)

金城 紀子

(琉球大学小児科：助教)

稲葉 豊

(和歌山県立医科大学皮膚科：助教)

中谷 友美

(和歌山県立医科大学皮膚科：研究補助員)

受入研究代表者：吉浦 孝一郎

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

受入研究者：木下 晃

(長崎大学原爆後障害医療研究所：講師)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究においては、琉球大学で見出された、PSMB9 新規ヘテロ変異を持つ中條－西村症候群様プロテアソーム関連自己炎症症候群の病態解明を目指し、以下の研究を行った。

1) PSMB9 ヘテロ変異導入マウスの脾臓、骨髄、胸腺などの細胞分画を検討し、T 細胞の減少と単球の増多を確認した。中條－西村症候群の PSMB8 ホモ変異導入マウスでは同様の変化は認めなかった。

2) PSMB9 ヘテロ変異導入マウス背部と耳介皮膚にイミキモドクリームを単回あるいは隔日反復塗布を行い、肉眼的・組織学的に評価したが、対照と比べて腫脹・角化・細胞浸潤などにおいて明らかな差異を認めなかった。

3) 横浜市立大学小児科で中條－西村症候群と診断されるも PSMB8 変異を認めない症例について、プロテアソーム関連遺伝子パネル解析と、両親とトリオでのエキソーム解析を行ったが、有意な変異は見出されなかった。引き続き

現在は、大分大学小児科の同様の症例について解析中である。

発表論文

1. 金澤伸雄：WHIM（疣贅，低ガンマグロブリン血症，易感染性，ミエロカテキシス）症候群．別冊日本臨牀新領域症候群シリーズ No.36 免疫症候群（第2版）－その他の免疫疾患を含めて－ III, pp.677-680, 日本臨牀社，東京，2016
2. 金澤伸雄：中條－西村症候群．別冊日本臨牀新領域症候群シリーズ No.36 免疫症候群（第2版）－その他の免疫疾患を含めて－ III, pp.825-830, 日本臨牀社，東京，2016
3. 金澤伸雄：古川福実：差分解説 中條－西村症候群（Nakajo-Nishimura syndrome）．日本医事新報 4813：52, 2016
4. 金澤伸雄：中條－西村症候群の病因と診断．新薬と臨牀 65：1212-1217, 2016
5. 金澤伸雄：自己炎症疾患．日本サルコイドーシス／肉芽腫性疾患学会雑誌 36：21-26, 2016
6. 金澤伸雄：中條－西村症候群．Visual Dermatology 16：128-132, 2017

F-28

東日本大震災後の腰痛と四肢関節痛の有症割合と関連要因に関する疫学研究**研究組織**

共同研究代表者：陣内 裕成

(大阪大学大学院医学系研究科：大学院生

現：日本医科大学大学院医学研究科：助教)

共同研究者：柿花 宏信

(大阪大学大学院医学系研究科：大学院生)

磯 博康

(大阪大学大学院医学系研究科：教授)

受入研究代表者：大平 哲也

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

受入研究者：橋本 重厚

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

前田 正治

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究では、福島県民健康調査 (Fukushima Health Management Survey) を用いて、東日本大震災の被災者の腰痛・四肢関節痛の実態、有所見との関連要因、さらに震災後の悪化を伴う腰痛・四肢関節痛との関連要因を明らかにする。

今年度は、「こころの健康度・生活習慣に関する調査 (平成 23 年度)」に参加した福島県民の男女 73433 人 (平均年齢 56 歳、四分位範囲 41~71 歳) の調査データを分析し、腰痛・四肢関節痛の有症割合を算出した。腰痛・四肢関節痛の定義は、「ここ数日、病気やけがなどで体の具合の悪いところ (自覚症状) がありますか」との問いに対し、「腰痛」または「手足の関節が痛む」に「ある」と回答した場合に症状ありとした。

その結果、腰痛・四肢関節痛は全体の 32% に認め、そのうち震災後に悪化した者は 6 人に 1 人 (15.9%) であった。部位別にみると、腰痛は四肢関節痛よりも多いが (腰痛 24.7%、四肢関節痛 16.3%)、有所見者のうち震災後に悪化した割合は同等であった (腰痛 14.2%、四肢関節痛 15.0%)。また、腰痛と四肢関節痛の両者の合併は全体の 9.4% に認め、両者が共に悪化した者は、合併者のうち 10 人に 1 人 (9.8%) であった。

今後は、年齢・性別・神経心理要因 (K6 等) を含めた分析を行い、腰痛・四肢関節痛とその悪化所見との関連要因を同定する予定である。

発表論文

なし

F-29

腫瘍抗原あるいは移植抗原に特異的な免疫制御法の開発

研究組織

共同研究代表者：大段 秀樹

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院 応用
生命科学部門 消化器・移植外科学:教授)

共同研究者：田中 友加

(同：准教授)

田邊 和照

(同：准教授)

竹原 寛樹

(同：大学院生)

田原 裕之

(同：助教)

坂井 寛

(同：大学院生)

佐々木 由布

(同：大学院生)

石田 裕子

(同：技術補佐員)

柳川 泉一郎

(同：大学院生)

受入研究代表者：田代 聡

(広島大学原爆放射線医科学研究所:教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

臓器移植における抗ドナー抗体産生のヒト化マウスモデル作製を目指した。ヒト白血球抗原 (HLA) の異なる健康人ボランティア末梢血単核球 (PBMC) を混合培養 (ドナータイプ PBMC には 30Gy 放射線照射処理を施した) し、感作を模倣した。この系において B 細胞が抗体産生細胞へ移行するために、ヒト CD40L を発現したマウス繊維芽細胞を Feeder として 10Gy の放射線照射後に混合培養系へ加えた。3 日間の培養の後、PBMC を回収し、免疫不全マウスへ経静脈的に投与し、その後ドナータイプの PBMC で 2 回の stimulation に伴うその後の Total IgG および HLA 抗体価を経時的に測定した。これまでの検討で、naïve PBMC を移入した後の刺激では、HLA 抗体産生はみられなかったが、フィーダー細胞を添加した混合培養細胞移入の系では、経時的な Total IgG の検出および Non DSA の HLA 抗体を検出し得た。一方で、DSA は予測に反して全く検出されず、この培養系は HLA 抗体検出では

なくドナー特異的抗体産生抑制メカニズムにつながる機構が潜んでいる可能性があることが示唆された。今後は、免疫抑制に寄与している細胞あるいは液性因子について検討を継続している。

発表論文

なし

F-30

免疫担当細胞におけるポリコーム蛋白質複合体サブユニットなどの機能解析**研究組織**

共同研究代表者：菅野 雅元

(広島大学：教授)

共同研究者：郭 芸

(広島大学：助教)

Kong Weng-Sheng

(広島大学：助教)

井上 洋子

(広島大学：助教)

受入研究代表者：本田 浩章

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

我々は、獲得免疫系の司令塔である T 細胞の分化制御機構の解析を行っており、胸腺内 T 細胞分化を制御する機構として次の 2 点に注目してきた。(1) Eed, Ezh2, Suz12 はサブユニットとして、ポリコーム蛋白質複合体 Polycomb repressive complex 2 (PRC2) を構成する。PRC2 はヒストン H3 リジン 27 (H3K27) のメチル化酵素活性を有し、様々な染色体部位での H3K27 メチル化を制御することにより、エピジェネティック制御機構を介して種々の細胞機能に関与していると考えられている。(2) タンパク質の分解にユビキチン化に関与している。このユビキチン系に関与する A20 (TNFAIP3) は、標的タンパク質のユビキチン化、脱ユビキチン化の両方に関与している制御因子である。

上記の全く異なる 2 つの制御系が、胸腺内 T 細胞分化にどのように関与しているかを検討するために、Lck-Cre マウス、CD4-Cre マウスの 2 種類と、floxed-Eed, floxed-A20 を掛け合わせて、胸腺内 T 細胞分化を検討したところ、両方の遺伝子ともに、最も変化が認められたのは、一般的な CD4 T 細胞や、CD8T 細胞ではなく、いわゆる「Agonist Selection」と呼ばれる細胞群であった (NKT 細胞や Treg 細胞などに代表される)。その中で A20 による Treg 細胞の増加が最も顕著であった。現在、胸腺内での Treg 細胞の分化・選択における TCR シグナル系、および NF- κ B シグナル系への A20 関与の詳細を生化学的に検討している。

発表論文

F-31

肝臓細胞上皮間葉移行における *micro RNA 122* の関連と発現の効果

研究組織

共同研究代表者：玉田 陽子

(長崎大学病院・消化器内科：助教)

受入研究代表者：永山 雄二

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

肝細胞増殖因子 (HGF) は肝臓細胞に上皮間葉移行を誘導し、肝臓細胞の運動性と浸潤能が亢進する。HGF による培養肝臓細胞の上皮間葉移行時における *microRNA-122* の発現をリアルタイム PCR で検討した結果、HGF によって E カドヘリンの発現低下、細胞運動の亢進がみられる数時間前より、*microRNA-122* の発現が低下することが明らかとなった。そこで、*microRNA-122* 発現アデノウイルスベクターを作成し、肝臓細胞に感染させ *microRNA-122* を強制発現させることで、HGF によって E カドヘリンの発現低下、細胞運動の亢進など上皮間葉移行誘導が抑制できるかを検討した結果、HGF によるこれらの変化が部分的ではあるが、有意に抑制されることが解かった。

今後は、*microRNA-122* が上皮間葉移行を抑える機序、その作用を仲介する *microRNA-122* の標的遺伝子の同定などを検討する予定である。

発表論文

なし。

F-32

低線量放射線による血管機能に及ぼす影響に関する研究

研究組織

共同研究代表者：平野 陽豊

(静岡大学 (学術院工学領域)：助教)

受入研究代表者：東 幸仁

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

近年、血管内皮機能が障害されることで動脈硬化が発現することが明らかになっている。動脈硬化は不可逆性であるが、血管内皮機能障害のステージまでは可逆的であり早期治療により完治するため、非侵襲血管内皮機能計測技術は重要である。これまでに超音波を用いた血管内皮機能を非侵襲計測法が提案されているが、計測者の技術熟練が必須である。そのため、本研究では心血管疾患に関連のあると言われている Earlobe crease (ELC) から血管内皮機能を推定する方法を提案する。この推定法を用いて、低線量放射線によるヒト血管機能への影響を明らかにする。

今年度は、カメラを用いて ELC の本数、長さを抽出するための画像処理アルゴリズム開発について取り組んだ。今後は ELC の形、位置、深さ、占有面積などの特徴を定量計測する方法を提案し、ELC の特徴から統計モデルなどを用いて血管内皮機能を評価するシステム開発を目指す予定である。このシステムを完成させることにより、低線量放射線による血管機能に及ぼす影響を評価することに役立つことが期待される。

発表論文

該当なし

F-33

高速シーケンサーを用いた EBV 関連悪性リンパ腫の発症機構の解明

研究組織

共同研究代表者：園木 孝志

(和歌山県立医科大学医学部血液内科学:教授)

受入研究代表者：吉浦 孝一郎

(長崎大学原爆後障害医療研究所:教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

研究内容：

EBV によるリンパ増殖性疾患には自然消退する疾患から激的な症状を呈し同種造血幹細胞移植を必要とする疾患があり、治療方針決定にとまどうことがある。本研究は、EBV 関連悪性リンパ腫の発症機構を調べ、新しい診断・治療の開発の端緒とする。

研究成果：

EBV 関連未熟 T リンパ腫患者から新規細胞株を作成し、未熟 T 細胞への EBV の侵入門戸が CD21 であることを明らかにした。感染している EBV には潜伏感染遺伝子プロモーター領域に塩基変異を生じていた。また、未熟 T 細胞内での EBV 潜伏感染状態が既存のパターンと異なっていることがわかった。また、EBV 感染 NK 細胞が腫瘍性増殖を示し、激的な血球貪食症候群を呈した患者に NFkB 調節因子 (CCDC22) の変異をみつけた。本遺伝子編をもつ CRISPER-Cas9 法によるモデルマウスを作成中である。

今後の展望：

T 細胞腫瘍における EBV 潜伏感染遺伝子発現パターンによる宿主免疫回避機構を明らかにし、新たな免疫治療法を確立したい。CCDC22 変異による NFkB 調節経路の変調を明らかにし血球貪食症候群の重症度分類につなげた。

発表論文

Hosoi H, Imadome KI, Tamura S, Kuriyama K, Murata S, Yamashita Y, Mushino T, Oiwa T, Kobata H, Nishikawa A, Nakakuma H, Hanaoka N, Isobe Y, Ohshima K, Sonoki T. An Epstein-Barr virus susceptible immature T-cell line, WILL4, established from a patient with T-lymphoblastic lymphoma bearing CD21 and a clonal EBV genome. Leuk Res. 2017 Apr; 55: 1-5.

F-34

リンパ系腫瘍の新規薬剤耐性機序の解明

研究組織

共同研究代表者：古川 雄祐

(自治医科大学 分子病態治療研究センター 幹細胞制御研究部:教授)

共同研究者：黒田 芳明

(自治医科大学 分子病態治療研究センター 幹細胞制御研究部:助教)

受入研究代表者：一戸 辰夫

(広島大学原爆放射線医科学研究所:教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

マンツル細胞リンパ腫 (MCL) は cyclinD1 過剰発現を特徴とする極めて難治性の造血器腫瘍である。初期より骨髓浸潤が認められる症例が多く、これらはリンパ節病変のみの患者と比べて化学療法抵抗性である。プロテアソーム阻害薬ボルテゾミブは MCL に対しても用いられるようになったが、多くの症例が再発している。したがって、MCL 患者におけるボルテゾミブ耐性機構の解明とその克服は重要な課題である。悪性リンパ腫、多発性骨髄腫などの薬剤耐性機構や増悪機構には腫瘍微小環境との相互作用が重要であるため、その一つである間質細胞と MCL 細胞の接着耐性機序について昨年に引き続き解析を進めた。

MCL 細胞株 HBL2、Jeko1 と骨髓間質細胞の接着培養下で両細胞株においてボルテゾミブ耐性が確認された。ボルテゾミブの MCL における抗腫瘍効果はアポトーシス誘導蛋白である NOXA の発現上昇が中心的機序であるが、骨髓間質細胞接着下では両細胞株ともボルテゾミブ添加による NOXA 蛋白の増加は抑制されており、このことがボルテゾミブ接着耐性の原因と考えられた。また骨髓間質細胞接着下では HBL2、Jeko1 においてアダプター因子 p62 の発現低下がみられておりオートファジーの誘導が示唆された。クロロキン添加や、Atg7 ノックダウンによるオートファジー誘導の阻害により接着下でも NOXA 蛋白の発現は維持され、ボルテゾミブに対する感受性も回復した。免疫沈降では p62・NOXA 蛋白の結合が認められ、接着下では NOXA 蛋白は p62 を介した選択的オートファジーにより分解されることが確認された。

MCL において、骨髓間質細胞の相互作用により亢進した選択的オートファジーにより NOXA 蛋白が抑制され、ボルテゾミブ耐性となる機序が明らかとなった。今後は MCL・骨髓間質細胞相互作用の阻害や、オートファジー

阻害がボルテゾミブ耐性を克服する可能性について検討を進める計画である。

発表論文

なし

F-35

センダイウイルス V タンパク質とウイルス核酸の認識に関わる複数の宿主因子との相互作用の解析

研究組織

共同研究代表者：小田 康祐

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院ウイルス学:助教)

受入研究代表者：川上 秀史

(広島大学原爆放射線医科学研究所:教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

人や家畜に重要な感染症を引き起こす多くのパラミクソウイルスでは、V タンパク質がウイルス核酸の認識に関わる宿主因子 MDA5 と相互作用する。しかしながら、パラミクソウイルス核酸は、MDA5ではなく、もうひとつの宿主因子 RIG-I によって認識され、感染ウイルスが早期排除される。このため、ウイルス感染における V: MDA5 間の相互作用の意義は不明である。最近、当研究グループでは、パラミクソウイルスのひとつセンダイウイルス (SeV) において、V タンパク質が MDA5 や RIG-I の下流で働く転写因子 IRF3 とも相互作用し、IFN- α/β の産生を阻害することを明らかにした (入江、投稿準備中)。またアラニンスキャンニング解析の結果、V タンパク質の Arg³⁴³ から Ile³⁴⁷ までの領域が IRF3 との結合に重要であることを突き止めた。他方、V タンパク質の C 末端は、パラミクソウイルス間で極めて保存性の高い重鉛結合モチーフをもち、MDA5 との認識に関与する。パラインフルエンザウイルス 5 型の V タンパク質と MDA5 の既知の複合体構造を基にし、SeV の V タンパク質: MDA5 の複合体モデルを構築した。このモデル構造を用いて、SeV V タンパク質の Arg³⁴³ および Arg³⁴⁵ がヒト MDA5 の Asp⁷⁹⁷ および Glu⁷⁹³ にそれぞれ接近し、相互作用する可能性を見出した。これらふたつの塩基性残基は、他のパラミクソウイルス間で保存性は低い。現在は、この SeV V タンパク質 Arg³⁴⁵ が MDA5 との結合に重要かどうか解析を試みている。

発表論文

F-36

炎症シグナルによる遺伝子発現の改変と発がん

研究組織

共同研究代表者：鎌田 英明

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院:准教授)

共同研究者：土谷 佳弘

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院:助教)

受入研究代表者：金井 昭教

(広島大学原爆放射線医科学研究所:助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、肝臓における炎症と発がんの連関を解析し、炎症にともなう遺伝子発現抑制により発がんを制御しているという研究成果が得られた。放射線照射やウイルス感染・細菌感染・代謝異常などにより誘発される炎症は組織・臓器の機能障害をもたらすが、DNA 損傷と共役して発がんをひきおこす。炎症による細胞の機能障害の分子機構の解明を目的として、腫瘍壊死因子 (TNF α) やインターロキン-1 (IL-1) などのサイトカインによる遺伝子発現の制御機構と発がんの連関を解析した。IKKb は TNF α や IL-1 などのシグナル系の中心で機能するが、IKKb 遺伝子改変マウスを作成したところ、生後直後から慢性的な炎症が惹起された。このマウスに対してジエチルニトロサミンによる肝癌の化学発がん実験を行ったところ、炎症にともなう肝細胞における染色体改変によりチトクロム p450 遺伝子発現が抑制されることにより、化学発がんが抑制されることが判明した。

今後は炎症にともなう染色体の改変の分子機構を解析し、炎症にともなう機能障害のしくみを解明する予定である。

発表論文

1. Fukushima T, Yoshihara H, Furuta H, Hakuno F, Iemura SI, Natsume T, Nakatsu Y, Kamata H, Asano T, Komada M, Takahashi SI. USP15 attenuates IGF-I signaling by antagonizing Nedd4-induced IRS-2 ubiquitination. Biochemical and Biophysical Research Communications. 484. 522-528 (2017)
2. Okubo H, Kushiya A, Sakoda H, Nakatsu Y, Iizuka M, Taki N, Fujishiro M, Fukushima T, Kamata H, Nagamachi A, Inaba T, Nishimura F, Katagiri H, Asahara T, Yoshida Y, Chonan O,

Encinas J, Asano T. Involvement of resistin-like molecule β in the development of methionine-choline deficient diet-induced non-alcoholic steatohepatitis in mice. Scientific Reports. 6. 20157 (2016)

3. Otaki Y, Takahashi H, Watanabe T, Funayama A, Netsu S, Honda Y, Narumi T, Kadowaki S, Hasegawa H, Honda S, Arimoto T, Shishido T, Miyamoto T, Kamata H, Nakajima O, Kubota I. Journal of American Heart Association. 5. e002485 (2016)

F-37

放射線被ばく医療に関するシミュレーショントレーニングシステム開発

研究組織

共同研究代表者：大内 元

(琉球大学医学部付属病院：特命講師)

共同研究者：福島 芳子

(長崎大学大学院医歯薬総合研究科：助教)

折田 真紀子

(長崎大学保健学科：助教)

高島 良生

(放射線医学総合研究所：研究員)

受入研究代表者：高村 昇

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は次の3段階で構成する。

Ⅰ. 模擬測定機器の開発

Ⅱ. 放射線被ばく医療シミュレーショントレーニングプログラムの開発

(一般医療機関、初期被ばく医療機関、患者搬送機関向け)

Ⅲ. 放射線被ばく医療シミュレーショントレーニングの普及

これまでに、放射線検出の模擬測定器のプロトタイプ開発すすめているが、スマートフォンを用いたBluetooth機能による検出が可能であることを確認している。また、シミュレーショントレーニングプログラムのコアとなるトレーニングシナリオのプロトタイプ作成をほぼ終えている。

今後、模擬測定装置の実証実験および被ばく医療シミュレーションプログラムシナリオのテストおよび検証(川内村復興拠点)を行い、トレーニングプログラムを作成する予定である(平成29年度)。

発表論文

平成28年度 なし

F-38

EBV関連リンパ腫における小分子RNAの網羅的解析

研究組織

共同研究代表者：幸谷 愛

(東海大学医学部内科学系血液腫瘍内科：教授)

共同研究者：樋口 廣士

(東海大学医学部内科学系血液腫瘍内科：助教)

：上滝 隆太郎

(東海大学医学部内科学系血液腫瘍内科：奨励研究員)

：緒方 洵

(東海大学医学部内科学系血液腫瘍内科：博士学生)

：片平 泰弘

(東海大学医学部内科学系血液腫瘍内科：博士学生)

：保科 貴広

(東海大学医学部内科学系血液腫瘍内科：修士学生)

：高松 昌子

(東海大学医学部内科学系血液腫瘍内科：研究技術員)

受入研究代表者：金井 昭教

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、本共同研究によって、EBV感染細胞から2014年に新規に同定された小分子RNAの生成機構を詳細に解析することを目的とした。Candidate Approachと生化学的な網羅的手法、双方を行い、現在、小分子RNAの生合成を阻害する酵素を同定した。

今後は、新規小分子RNAの生物学的意義を明らかにするために、変異マウスを作製し、その表現形質を詳細に解析していく予定である。

発表論文

Kishikawa T, Otsuka M, Yoshikawa T, Ohno M, Yamamoto K, Yamamoto N, Kotani A, Koike K

Quantitation of circulating satellite RNAs in pancreatic cancer patients JCI Insight. 2016 Jun 2; 1(8): e86646.

F-39

レギュラトリーサイエンスを導入した放射線教育開発

研究組織

共同研究代表者：杉田 克生

(千葉大学教育学部：教授)

共同研究者：加藤 徹也

(千葉大学教育学部：教授)

佐藤 泰憲

(千葉大学大学院医学研究院：准教授)

喜多 和子

(千葉大学大学院医学研究院：准教授)

神田 玲子

(国立研究開発法人放射線医学総合研究所

放射線防護情報統合センター：センター長)

受入研究代表者：永山 雄二

(長崎大学原爆後障害医療研究所：所長)

研究内容・研究成果・今後の展望等

中学生が使用している理科教科書の分析の結果、年間被曝線量限度や医療における被曝線量など数種類の基準値が記載されているが、その根拠などについては触れられていないことが明らかになった。これらの背景を踏まえ、放射線教育にレギュラトリーサイエンスを導入するために共同研究者らと協議を行い、デジタルコンテンツ教材を開発した。レギュラトリーサイエンスは学習指導要領外の内容であることから、時間を多く割くことは難しいとともに、教授する教員の理解不足も考えられたため、学校現場で使用する事が可能なデジタル教材を作成した。

平成 28 年 12 月 9 日（金）13 時より長崎大学原爆後障害医療研究所において「放射線教育に関する研究会」を行い、研究の進捗状況について双方で意見交換を行った。レギュラトリーサイエンスを放射線教育に導入していくことの重要性と、実際に開発した教材を使用しての評価方法に関して討議した。特に 1. 作成した放射線生体リスク指導のための教材開発ならびに 2. 改定後中学校理科教科書での放射線記載内容ならびに現大学生の放射線知識状況について改善点などが明らかとなった。

今後は改善点を反映させた放射線教育教材を中学校において実際に使用し普及を図る。「学校での放射線リスク教育ガイドブック」を作成し、千葉大学リポジトリより閲覧可能とした。今後学校現場に即した教材にさらに改良していく。放射線教育を充実させるとともに、種々発展する

科学技術が有するリスクに対し自ら考え意思決定できる人材を育成し、科学立国を推進させるための学校での科学教育の充実につなげる。

発表論文

川崎靖奈, 前田彩香, 杉田克生, 野村純, 加藤徹也, 高橋博代 放射線知識調査を基にした放射線生体リスク学習プログラムの開発 千葉大学教育学部研究紀要 vol 65, pp375-382 (平成 29 年 3 月 1 日発行)

杉田克生編 学校での放射線リスク教育ガイドブック 千葉大学教育学部養護教諭教育講座 千葉 (平成 29 年 3 月 15 日発行 ISBN978-4-903328-22-5) (<http://doi.org/10.20776/B9784903328225>)

F-40

発生、再生過程における遺伝子発現および
細胞増殖・分化の制御機構

研究組織

共同研究代表者：菊池 裕

(広島大学大学院理学研究科：教授)

共同研究者：武藤 彰彦

(広島大学大学院理学研究科：助教)

穂積 俊矢

(広島大学大学院理学研究科：助教)

受入研究代表者：金井 昭教

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究課題では、ゼブラフィッシュ尾ビレ再生時に観察される脱分化機構の解明を研究目的に、脱分化細胞で特異的に発現する遺伝子を次世代シーケンサーにより単離し、脱分化に機能する遺伝子を明らかにする事を目指している。脱分化細胞を GFP 蛍光でラベルするため、*EGFP-ribosomal protein L10a* 遺伝子を有するトランスジェニックフィッシュ (Tg) の作製を行った。この Tg の再生芽から、脱分化細胞特異的遺伝子の単離を行った結果、切断前後で 2 倍以上発現に差がある遺伝子を 132 種類得る事に成功した。

発表論文

1. Miles, L.B., Mizoguchi, T., Kikuchi, Y., and Verkade, H. (2017). A limited role for Planar Cell Polarity during early endoderm morphogenesis. *Biology Open* in press.
2. Fujii, M., Sakaguchi, A., Kamata, R., Nagao, M., Kikuchi, Y., Evans, S.M., Yoshizumi M., Shimono, A., Saga, Y., and Kokubo, H. (2017). Sfrp5 identifies murine cardiac progenitors for all myocardial structures except for the right ventricle. *Nature Communications* 8: 14664.
3. Iwasaka M., Tagawa K., and Kikuchi, Y. (2017). Magnetically tunable control of light reflection in an optical protein of squid. *AIP ADVANCES* 7: 056722.
4. Shiomi T., Muto A., Hozumi S., Kimura H., and Kikuchi, Y.* (2017). (* corresponding author). Histone H3 lysine 27 trimethylation leads to loss of mesendodermal competence during gastrulation in

zebrafish ectodermal cells. *Zoological Science* 34: 64-71.

5. Nakahara Y., Muto A., Hirabayashi R., Sakuma T., Yamamoto T., Kume S., and Kikuchi, Y. * (2016). (* corresponding author). Temporal effects of Notch signaling and potential cooperation with multiple downstream effectors on adenohypophysis cell specification in zebrafish. *Genes to Cells* 21: 492-504.

F-42

A キナーゼアンカータンパク変異体における心筋内カルシウム動態の解明

研究組織

共同研究代表者：中野 由紀子

(広島大学病院：講師)

共同研究者：小野原 優子

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科：技術員)

松村 誠也

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科：大学院生)

友森 俊介

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科：大学院生)

受入研究代表者：田代 聡

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

breakthrough となる。

発表論文

なし

研究内容・研究成果・今後の展望等

致死的不整脈であるブルガダ症候群 (BrS) は、Na チャネル遺伝子 α subunit (SCN5A) に変異症例が多く報告されているが、SCN5A に変異をもつ BrS が全症例の 20% 以下である。また BrS は、副交感神経が優位である時に心室細動発作を発症し、自律神経の変化が関与していることも明らかになっている。我々は、BrS 症例において、L 型カルシウム (Ca^{2+}) チャネルの補助蛋白である AKAP15 に変異のある症例を新規に発見した。この変異は AKAP15 が心筋 L 型 Ca^{2+} チャネルに結合する部位に存在した。

今回の目的は、AKAP15 変異体における交感・副交感神経刺激時の心筋内 Ca 動態を解明することである。このために、AKAP15 の mutant と wild type を L 型 Ca^{2+} チャネルと共に HEK に共発現させて、 β 受容体刺激時、アセチルコリン受容体刺激時における細胞内 Ca^{2+} 動態を、三次元タイムラプス画像構築取込システムを用いた観察を行っている。

AKAP15wild type においては、 β 刺激により速やかにホスホキナーゼ A (PKA) による L 型 Ca^{2+} チャネルのリン酸化が惹起され、細胞内 Ca wave の増加が認められ、AKAP15mutant type では PKA が細胞膜近傍にないため、Ca wave の増加が認められないかあるいは遅れることが予想される。またアセチルコリン受容体刺激時には、AKAP15mutant type ではほとんど Ca wave が消失することが予想される。このような結果が得られた場合、AKAP15 の変異がブルガダ症候群の病態に深く関与している可能性があり、ブルガダ症候群の病因解明において

F-43

DNA 損傷応答分子 53BP1 発現による
CIN2 予後予測診断マーカーの開発

研究組織

共同研究代表者：川下 さやか

(長崎大学医歯薬学総合研究科展開医療
科学講座 産科婦人科学：大学院生)

共同研究者：増崎 英明

(長崎大学医歯薬学総合研究科展開医療
科学講座 産科婦人科学：教授)

三浦 清徳

(長崎大学医歯薬学総合研究科展開医療
科学講座 産科婦人科学：准教授)

受入研究代表者：中島 正洋

(長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

受入研究者：松田 勝也

(長崎大学原爆後障害医療研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

【内容】

子宮頸癌の前癌病変の管理において、癌化リスクの評価は臨床的に重要な意味を持つ。現在推奨されている HPV ジェノタイプングは有用な検査であるが、それに加えて、腫瘍の進展を予測する新しいマーカーの開発が望まれている。今回の研究は、転帰の知られた CIN1 および 2 においてゲノム不安定性の指標である 53BP1 の発現パターンを分析し、53BP1 核内フォーカスが CIN の予後予測因子として有用であるかどうか検討することを目的とした。検討項目は、(1) 53BP1-Ki67 蛍光二重染色による核内フォーカスの発現頻度およびパターン、(2) (1) が病変の進行を予測する因子になるか否かの統計学的な解析、(3) CIN の診断に有用なマーカーである p16 との比較、の 3 点とした。

【結果】

(1) 病変の進行に伴い、53BP1 の核内フォーカスは有意に増加した。また、53BP1-Ki67 共陽性細胞の割合も、病変の進行に伴い有意に増加した。HPV ゲノムの宿主細胞への取り込みを反映する HPV *in situ* hybridization の所見は、53BP1 の核内フォーカスの増加と有意に関連していた。(2) CIN1 あるいは CIN2 を転帰に応じて進行群および非進行群に分類し、各々の群における 53BP1-Ki67 蛍光二重染色の所見を比較した。両群間には有意な差は認めなかった。(3) 53BP1-p16 蛍光二重染色を行い、p16 の評価において重要な blocked positive の所見が 53BP1 でも同様に得

られることを確認した。また、p16 陰性の CIN においては、53BP1 がより優れた診断のマーカーになる可能性が示された。以上のことから、子宮頸部において 53BP1 の発現パターンは予後予測因子にはならないが、診断に有用な指標となることが明らかになった。

【展望】

今後は臨床応用に向けてデータの集積を図りたい。

発表論文

現在作成中

F-44

心臓血管系の形成・維持機構の解明

研究組織

共同研究代表者：吉栖 正生

(広島大学医歯薬保健学研究院心臓血管
生理医学教室：教授)

共同研究者：小久保 博樹

(同・心臓血管生理医学教室：講師)

Batmunkh Bumdelger

(同・心臓血管生理医学教室：助教)

藤井 雅行

(同・心臓血管生理医学教室：医学科学生)

鎌田 諒

(同・心臓血管生理医学教室：大学院生)

受入研究代表者：本田 浩章

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、動脈硬化と骨形成過程との関連性に着目し、骨形成に関わる因子 Osteoprotegerin (Opg) をコードする遺伝子欠損 (KO) マウスに対して大動脈瘤マウスモデル作出法を適用し、その表現型を解析することによって、動脈瘤発症における骨形成因子の機能解析を行い、動脈瘤形成の発症メカニズムを明らかにするものである。本年度は、瘤形成が前投与によって縮小する薬剤のスクリーニングの一環として、エイコサペンタエン酸 (EPA) の本モデルにおける瘤予防・治療の可能性について検討した。

塩化カルシウムを直接腹部大動脈に塗布し、1～6週後に大動脈瘤を発症させる系において、Opg 遺伝子の欠損 (KO) マウスに (7～8週齢) を適用した場合、正常型マウスと比べて、大動脈を構成する中膜のエラスチン弾性繊維の崩壊を伴う動脈瘤の増悪を認める。この系に用いて、施術一週間前より EPA を食餌によって摂取させた結果、Opg-KO マウスにみられたエラスチン弾性繊維の破壊が抑制されることを見出した。血管平滑筋細胞の培養系において、EPA が直接結合する GRP-120/FFRA4 受容体からのシグナルを介して、Opg 遺伝子の欠損によって活性化されと考えられる JNK カスケードが抑制されることが示された。

今後は、瘤形成が前投与によって縮小する薬剤のスクリーニングを進める予定である。

発表論文

Kamata R, Bumdelger B, Kokubo H, Fujii M, Yoshimura K, Ishida T, et al. EPA Prevents the Development of Abdominal Aortic Aneurysms through Gpr-120/Ffar-4. *PLoS ONE* 11 (10): e0165132 (2016)

F-45

造血細胞の細胞周期における増殖分化に関する遺伝子機能の探索

研究組織

共同研究代表者：北村 俊雄

(東京大学医科学研究所：教授)

共同研究者：福山 朋房

(東京大学医科学研究所：助教)

受入研究代表者：長町 安希子

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

白血病細胞株 HL60 に ATRA もしくは VitD を作用させて好中球系又は単球系に分化誘導を行い、経時的に網羅的な遺伝子発現の解析を RNAseq で行った（横浜利権との共同研究）。早期に発現が上昇する遺伝子候補を複数同定した。その中で好中球系と単球系細胞への両方の分化に伴って発現が早期に上昇する遺伝子として Sema6B に注目した。Sema6B 遺伝子座のプロモーター下に蛍光タンパク質遺伝子（mVenus）をノックインで導入し、分化早期に細胞が蛍光を発するようにした。この細胞のノックインの部分を長町博士に担当していただいた。幾つか取れたクローンを医科研で調べたところ、分化誘導によって1-2時間で蛍光色を発することがFACSで確認できた。しかしながら、発現量が低く目視では分化誘導に伴って発現する蛍光色が確認できなかった。

これらの細胞はある一定の目的では使用できると思われるが、当初の目的のようにFucciと組み合わせによって細胞周期と分化の関係を調べる実験には使用できない。今後は、もう少し強く発現が誘導される遺伝子を選択するか、強い蛍光色を発する遺伝子を利用するかを考える必要がある。今回の実験では系は動くことが確認できたのが収穫であった。

発表論文

該当なし

F-46

脳腫瘍のWHO分類のための遺伝子診断

研究組織

共同研究代表者：山崎 文之

(広島大学 脳神経外科：講師)

共同研究者：高安 武志

(広島大学 脳神経外科：医科診療医)

吉廣 正子

(広島大学 脳神経外科：研究員)

Vega Karlowee

(広島大学 脳神経外科：大学院生)

受入研究代表者：松浦 伸也

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

現在の病理検査体制ではWHO 2016で必要とされる脳腫瘍の分子診断に対応できていない。われわれはIDH1遺伝子変異をhigh resolution melting analysisによるreal time PCRで行い、脳腫瘍の分子診断を行い日常診療に活用することを目指しており、個々の患者の診断に役立てる一方、現在データを蓄積している。

今後もデータを蓄積し、有用性を報告する予定である。

発表論文

特になし

F-47

頭頸部癌における網羅的メチル化解析

研究組織

共同研究代表者：三澤 清

(浜松医科大学 耳鼻咽喉科・頭頸部外科：講師)

受入代表研究者：金井 昭教

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

近年、DNA のメチル化をはじめとするエピジェネティックな変化が、RNA 合成ひいては蛋白発現を抑制することから、癌化機構の一つとして認識されている。我々はこれまで頭頸部扁平上皮癌メチル化解析を行い、予後不良因子となる遺伝子マーカーを報告して、今回は SALL3, SALL4, EZH2 遺伝子に着目した。

SALL3, SALL4 遺伝子は Zing finger 転写因子であり、SALL4 遺伝子は ES 細胞の安定化に重要で、SALL3 遺伝子は種々の癌でメチル化されているとの報告がある。EZH2 はヒストンメチルトランスフェラーゼで、種々の癌で発現や予後不良因子との報告がされている。

頭頸部癌細胞株 Fadu, UM-SCCC-6, HPV 感染頭頸部癌細胞株 UM-SCC-47 にこれらの遺伝子の siRNA を導入し、RNAseq を行った。コントロールと比較して発現量が 2 倍以上の増減を認めた mRNA と MIR を公共データベース Reactome でパスウェイ解析した。

SALL3 遺伝子発現を認める癌細胞株 Fadu に SALL3 抑制すると、RNAseq で発現量が減少した遺伝子で DNA ポリメラーゼ I プロモータークリアランスと PRC2 メチル化などのパスウェイと関連を認めた。

EZH2 遺伝子高発現の癌細胞株 Fadu, UM-SCC-6 の EZH2 抑制では、発現量が減少した遺伝子で DNA ポリメラーゼ I プロモータークリアランスなどと関連を認めた。

SALL4 遺伝子高発現の癌細胞株 Fadu, UM-SCC-6 の SALL4 抑制では、発現量が減少した遺伝子で DNA ポリメラーゼ I プロモータークリアランス、PRC2 ヒストン・DNA メチル化、DNA メチル化、HDAC ヒストン脱アセチル化などと関連を認めた。

次世代シーケンサーによる coding RNA, nc RNA の網羅的解析は、発癌に複数の遺伝子がかかわる頭頸部癌には非常に有用である。今回の知見と、当科がこれまで培ってきたエピゲノム解析と合わせ、発癌メカニズムや予後マーカー、治療標的遺伝子の発見につなげて行きたい。

発表論文

該当なし

F-48

MLL 白血病の分子メカニズム

研究組織

共同研究代表者：横山 明彦

(京都大学医学研究科：研究員)

受入研究代表者：金井 昭教

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究では MLL 白血病の分子メカニズムを調べる目的で、MLL 白血病細胞株における MLL キメラタンパク質及びその結合因子のゲノム上での局在を ChIP-seq 法にて解析する。我々は、MLL-ENL キメラを発現する HB1119 細胞を用いて様々なクロマチン結合因子やヒストン修飾の ChIP-seq 解析を行った。その際に広島大学の次世代シーケンサーを用いて解析を行った。その結果、MLL-ENL は多くの MLL 標的遺伝子上で、AEP 複合体構成因子や、DOT1L 複合体構成因子と共局在していることがわかった。一方で、一部の MLL 標的遺伝子上では AEP や DOT1L ではなく PRC1 複合体と共局在していた。この結果は、MLL-ENL が何らかのクロマチンコンテクスト依存的に結合相手を選択しており、結合相手によって転写を活性化したり不活性化したりすることを示唆した。白血病を発症させる白血病関連遺伝子である HOXA9 や MEIS1 は AEP や DOT1L が共局在する遺伝子群に含まれており、MLL-ENL 依存的に転写活性化される。マウス白血病モデルを用いた解析により、白血病発症には MLL-ENL が AEP と DOT1L 両方を標的クロマチン上にリクルートすることが必要であることがわかった。したがって MLL-ENL は AEP と DOT1L を介して協調的に転写を活性化していると考えられた。そこで、両者の活性を2種類の化合物で同時に阻害してみると、MLL 白血病細胞に対して高い抗腫瘍効果が得られることがわかった。これらの成果により、AEP と DOT1L を同時に阻害することが、将来的に予後不良の MLL 白血病に対する効果的な治療法の開発につながることを示唆された。

発表論文

Okuda H, Stanojevic B, Kanai A, Kawamura T, Takahashi S, Matsui H, Takaori-Kondo A, *Yokoyama A. Cooperative gene activation by AF4 and DOT1L drives MLL-rearranged leukemia. *J. Clin. Invest.* 127(5) 1918-1931 (2017)

F-49

がん細胞の遺伝子発現制御における細胞内代謝の役割

研究組織

共同研究代表者：上田 健

(近畿大学医学部：講師)

共同研究者：太田 一成

(近畿大学医学部：助教)

古室 暁義

(近畿大学医学部：助教)

岡田 斉

(近畿大学医学部：教授)

受入研究代表者：金井 昭教

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

グルコース非依存的な細胞増殖に関与する遺伝子発現変化を捉える目的で、ヒト造血器腫瘍細胞株を、血清含有の通常培地、血清由来のグルコースのみを含む基本培地、その後、元の血清含有通常培地に戻したものの、3つの条件下で連続的に培養した。それぞれの培養条件下における細胞から RNA を抽出し、広島大学原医研保有の次世代シーケンサーを用いて RNA シークエンスをおこなった。現在、発現データの解析を進めている。

発表論文

なし

F-50

circulating tumor DNA の解析

研究組織

共同研究代表者：茶山 一彰

(広島大学消化器・代謝内科：教授)

共同研究者：卜部 祐司

(広島大学消化器・代謝内科：助教)

益田 和彦

(広島大学消化器・代謝内科：大学院生)

影本 賢一

(広島大学消化器・代謝内科：大学院生)

平野 大樹

(広島大学消化器・代謝内科：大学院生)

受入研究代表者：金井 昭教

(広島大学原爆放射線医科学研究所：助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

肝細胞癌 300 症例の全ゲノム解析を行い構造解析も行った (Nature Genetics 2016)。この成果を利用して、血中の癌ゲノムの検出、フォローアップを行っている。今後癌治療の進展に伴いこのような研究の重要性は益々高くなると考えられる。

発表論文

1. Furuta M, Ueno M, Fujimoto A, Hayami S, Yasukawa S, Kojima F, Arihiro K, Kawakami Y, Wardell CP, Shiraishi Y, Tanaka H, Nakano K, Maejima K, Sasaki-Oku A, Tokunaga N, Boroevich KA, Abe T, Aikata H, Ohdan H, Gotoh K, Kubo M, Tsunoda T, Miyano S, Chayama K, Yamaue H, Nakagawa H. Whole genome sequencing discriminates hepatocellular carcinoma with intrahepatic metastasis from multicentric tumors. *J Hepatol.* 66: 363-373. 2017.
2. Van Renne N, Roca Suarez AA, Duong FH, Gondeau C, Calabrese D, Fontaine N, Ababsa A, Bandiera S, Croonenborghs T, Pochet N, De Blasi V, Pessaux P, Piardi T, Sommacale D, Ono A, Chayama K, Fujita M, Nakagawa H, Hoshida Y, Zeisel MB, Heim MH, Baumert TF, Lupberger J. miR-135a-5p-mediated downregulation of protein tyrosine phosphatase receptor delta is a candidate driver of HCV-associated hepatocarcinogenesis. *Gut.* 2017. in press.
3. Fujimoto A, Furuta M, Totoki Y, Tsunoda T, Kato

M, Shiraishi Y, Tanaka H, Taniguchi H, Kawakami Y, Ueno M, Gotoh K, Ariizumi S, Wardell CP, Hayami S, Nakamura T, Aikata H, Arihiro K, Boroevich KA, Abe T, Nakano K, Maejima K, Sasaki-Oku A, Ohsawa A, Shibuya T, Nakamura H, Hama N, Hosoda F, Arai Y, Ohashi S, Urushidate T, Nagae G, Yamamoto S, Ueda H, Tatsuno K, Ojima H, Hiraoka N, Okusaka T, Kubo M, Marubashi S, Yamada T, Hirano S, Yamamoto M, Ohdan H, Shimada K, Ishikawa O, Yamaue H, Chayama K, Miyano S, Aburatani H, Shibata T, Nakagawa H. Whole-genome mutational landscape and characterization of noncoding and structural mutations in liver cancer. *Nat Genet.* 48: 500-9. 2016.

F-51

原爆被爆者の放射線関連甲状腺乳頭癌に関するゲノム解析の試行調査

研究組織

共同研究代表者：林 奉権

(放射線影響研究所分子生物科学部：副部長)

共同研究者：森下 ゆかり

(放射線影響研究所分子生物科学部：副技師長)

佐々木 圭子

(放射線影響研究所分子生物科学部：副技師長)

長村 浩子

(放射線影響研究所分子生物科学部：副技師長)

牧 真由美

(放射線影響研究所分子生物科学部：副技師長)

受入研究代表者：松浦 伸也

(広島大学原爆放射線医科学研究所：教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究では、予備的調査として原爆被爆者以外の甲状腺乳頭癌の保存組織（1年以内、10年、30年、50年間保存のホルマリン固定パラフィン包埋組織）から抽出したDNA/RNAおよびそれらから調製された全ゲノムシーケンス（WGS）用ライブラリーの品質評価をマイクロチップ自動電気泳動システム Tape Station を用いて行った。その結果、1年以内、10年間保存のホルマリン固定パラフィン包埋組織からは十分な長さのDNA/RNAが抽出され、またWGS用に供するための長さのライブラリーも調製できたが、30年、50年間保存のホルマリン固定パラフィン包埋組織では抽出されたDNA/RNAはより小さく断片化されていて、WGS用のライブラリーとしてはより短いライブラリーしか調製できないことが判明した。

今後は、甲状腺乳頭癌の保存組織試料をマイクロディセクションにより正常部と腫瘍部に分け、それらの各部位のDNA/RNAを抽出、WGS用ライブラリー調製を行い、マイクロチップ自動電気泳動システム Tape Station を用いてDNA/RNA、およびライブラリーの品質評価を行うとともに、それらのライブラリー試料を用いてWGSによる評価も合わせて行う予定である。

発表論文

なし。

F-52

ヒト副腎培養細胞株を用いた副腎腫瘍発現遺伝子の機能解析

研究組織

共同研究代表者：沖 健司

(広島大学大学院 分子内科学：助教)

共同研究者：小武家 和博

(広島大学大学院 分子内科学：大学院生)

一町 澄宜

(広島大学大学院 分子内科学：大学院生)

受入研究代表者：宮本 達雄

(広島大学原爆放射線医科学研究所：講師)

研究内容・研究成果・今後の展望等

【背景】

近年、原発性アルドステロン症の一病型であるアルドステロン産生腺腫（APA）にイオンチャネルやポンプの遺伝子変異が同定され、これらの変異は細胞内 Ca^{2+} シグナルを活性化し、アルドステロン合成酵素（CYP11B2）を促進することが明らかにされた。そこで、アルドステロン（Aldo）自律過剰合成に関わる細胞内 Ca^{2+} シグナル伝達の鍵分子を同定し、鍵分子を介した Aldo 合成機構の解明を目的とした。

【方法】

当院で摘出したAPA（n=24）、非機能性副腎皮質腺腫（NF, n=6）を対象に網羅的遺伝子発現解析を行った。

【結果】

CYP11B2の発現と最も関連する Ca^{2+} 結合蛋白遺伝子として、calneuron 1をコードする *CALN1*を見出した。APAの *CALN1* mRNA発現はNFに比し有意に高値で、*CALN1*とCYP11B2は有意な正相関を認めた。APAの免疫組織化学でcalneuron 1とCYP11B2の発現部位は一致していた。副腎皮質癌細胞株（HAC15）に *CALN1*を強制発現するとCYP11B2は有意に上昇し、Aldo合成を亢進させ、shRNAによる *CALN1*発現抑制では、アンギオテンシンII（A-II）刺激によるAldo合成促進が抑制された。低濃度食塩で飼育したラット副腎の免疫組織化学では、CYP11B2とcalneuron 1の強発現を認めた。HAC15への *KCNJ5* 遺伝子変異導入で *CALN1*は有意に増加し、*CALN1*発現抑制を加えると促進したAldo合成は抑制された。HAC15にGFP融合 *CALN1*を導入した細胞内局在に関する検討で、calneuron 1は小胞体に存在することが示唆された。さらに *CALN1*を導入したHAC15で、細胞

内 Ca^{2+} 濃度は有意に上昇した。

【結語】

APA や A-II 依存性 Aldo 過剰症において、小胞体内の calneuron 1 の増加および Ca^{2+} 貯蔵増加を介して、Aldo 合成が促進されることがわかった。Aldo 合成が抑制されたことから、APA の創薬の標的因子になる可能性がある。

発表論文

なし

F-53

肝内胆管癌における上皮間葉転換におけるペリオスチンの役割の検討

研究組織

共同研究代表者：菅野 啓司

(広島大学病院 総合内科・総合診療科:診療准教授)

共同研究者：杉山 晶子

(広島大学病院 総合内科・総合診療科:研究員)

受入研究代表者：野間 玄督

(広島大学原爆放射線医科学研究所:助教)

研究内容・研究成果・今後の展望等

【研究内容】

ペリオスチンは組織傷害の修復過程で生じる線維性成分などから構成される細胞外マトリックス蛋白であり、肺や心臓、皮膚など種々の臓器における創傷治癒や線維化に寄与している。我々は肝臓においてもペリオスチンが線維化を促進することを明らかにした。本研究では、豊富な線維性間質を有する硬癌の一つである肝内胆管癌におけるペリオスチンの関与について明らかにするため、ヒト肝内胆管癌細胞株および肝内胆管癌患者組織におけるペリオスチンの発現を評価するとともに、上皮間葉転換 (EMT) に注目し検討を行った。

【研究成果】

1) 肝内胆管癌患者組織においてペリオスチンは非癌部と比較し高度な発現を認めた。2) ヒト肝内胆管癌細胞株 HuH28 はヒト胆管上皮細胞株 MMNK1 に比べ、ペリオスチンの高発現が認められた。また HuH28 におけるペリオスチンの発現は N-cadherin、Fibronectin、Vimentin など間葉系マーカーの発現と強い相関を示した。3) HuH28 に対しペリオスチンの発現抑制により間葉系マーカーの発現は抑制され、上皮系マーカー E-cadherin の発現が亢進した。また、細胞増殖能や遊走能の抑制、ゲムシタビンに対する抵抗性の減弱が認められた。

【今後の展望】

今回の検討により、ペリオスチンは肝内胆管癌細胞の上皮間葉転換を促進し、癌細胞の生物学的悪性度に寄与していることが示唆された。今後はさらなる臨床応用のための基盤となるデータの集積を目指すとともに、肝胆道疾患におけるペリオスチンの役割とその機序について継続して検討を行う。

発表論文

Sugiyama A, Kanno K, Nishimichi N, Ohta S, Ono J, Conway SJ, Izuhara K, Yokosaki Y, Tazuma S. Periostin promotes hepatic fibrosis in mice by modulating hepatic stellate cell activation via α_v integrin interaction. *J Gastroenterol*. 2016 Dec; 51(12): 1161-1174.

F-54

自然免疫における optineurin の機能解析

研究組織

共同研究代表者：福士 雅也

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院(医):助教)

共同研究者：坂口 剛正

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院(医):教授)

受入研究代表者：川上 秀史

(広島大学原爆放射線医科学研究所:教授)

研究内容・研究成果・今後の展望等

川上秀史教授らが筋萎縮性側索硬化症(ALS)関与遺伝子として同定したオプチニューリン(optineurin)は、これまでの我々の研究で自然免疫に関与する可能性が示唆されている(Sakaguchi et al, 2011)。このため、培養細胞などへウイルス感染させる事で、オプチニューリンがどのように自然免疫の活性化に関与しているのか、そのメカニズムを明らかにする。

今後、ウイルス感染させた培養細胞のさらなる解析を行う予定である。

発表論文

なし。

《付 録》

【平成28年度 公募要項】**はじめに**

本拠点は、福島第一原発事故が要請する学術に対応するために、広島大学原爆放射線医科学研究所、長崎大学原爆後障害医療研究所及び福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センターの3研究機関がネットワーク型拠点を形成し、先端的かつ融合的な放射線災害・医科学研究の学術基盤の確立と、その成果の国民への還元と国際社会への発信を目的として平成 28 年度に設置されます。

放射線研究及び関連諸科学の共同研究を推進するため、3 研究機関が共同して公募いたします。

申込み方法*** 研究課題種目**

公募する研究課題種目及び細目は、次のとおりです。

【福島原発事故対応プロジェクト課題】

- ①低線量・低線量率放射線の影響に関する研究
- ②内部被ばくの診断・治療法の開発
- ③放射線防護剤の開発研究
- ④放射線災害におけるリスクコミュニケーションのあり方等に関する研究

【重点プロジェクト課題】

- ①ゲノム損傷修復の分子機構に関する研究
- ②放射線発がん機構とがん治療開発に関する研究
- ③放射線災害医療開発の基礎的研究
- ④被ばく医療の改善に向けた再生医学的基礎研究
- ⑤放射線災害における健康影響と健康リスク評価研究
- ⑥R I の医療への応用

【自由研究課題】

放射線災害・医科学研究の総合的発展を目指し、本拠点の施設・設備や資・試料を利用して、応募者の自由な発意に基づき行われる共同研究

福島原発事故対応プロジェクト課題及び重点プロジェクト課題で応募された申請は、申請者が選択した研究課題種目及び細目を変更することが望ましいと研究課題審査部会が審査の過程で判断した場合には、変更することがあります。

*** 申請資格**

平成 28 年 4 月 1 日の時点で、大学・研究機関の研究者、大学院生またはこれらに相当する方（見込みを含む）を対象とします。

*** 研究期間**

平成 28 年 6 月 1 日から平成 29 年 3 月 31 日までの間

* 提出書類

円滑な研究活動が可能となるようあらかじめネットワーク型共同利用・共同研究拠点の研究機関の受入研究者（教授、准教授、講師及び助教）と打ち合わせのうえ、次の書類を作成してください。

➤ 共同利用・共同研究申請書（様式 1）（エクセルファイル 125KB）

➤ 所属機関長の承諾書（様式 2）（ワードファイル 29KB）

※申請者（複数の場合は代表者）が広島大学、長崎大学及び
福島県立医科大学に所属する場合は提出不要

受入研究者については、下記 URL を参照してください。

- ・ 広島大学：<http://www.rbm.hiroshima-u.ac.jp/jp/organization/index.html>
- ・ 長崎大学：<http://www-sdc.med.nagasaki-u.ac.jp/abdi/organization/index.html>
- ・ 福島県立医科大学：<http://www.fmu.ac.jp/fgmsc/partnership>

* 提出方法

申請書を作成し、公募申込フォームより申請してください。

* 申請締切

平成 28 年 3 月 31 日（木）

申請は締切日以降も受付します。

* 採否

研究課題審査部会の議を経て運営委員会で採否を決定し、平成 28 年 5 月末日までに拠点本部長より申請者に通知します。

採択された課題は、本 HP の「採択課題一覧」で所属・氏名・課題名等を公表します。

また、研究費を配分する研究課題には配分額を併せて通知します。

※採択後に共同利用を希望する設備・機器等の利用にあたっては当該設備・機器等を管理する研究機関にお問い合わせください。

※設備等の利用に際し、各種申請、講習会の受講等の諸手続が必要な場合があります。

* 共同研究費（旅費を含む）

福島原発事故対応プロジェクト課題及び重点プロジェクト課題として採択された共同研究のうち、研究課題審査部会の議を経て運営委員会で決定した申請に対し、100万円を上限として共同研究費を配分します。研究代表者が受入研究者と同一大学構成員である場合や、締切日を過ぎて申請された場合は、共同研究費配分の審査対象になりませんので、ご留意願います。

* 成果報告書

研究期間終了時に研究状況及び成果を記載した「成果報告書」を研究代表者から提出していただきます。報告書の記載要領などについては、後日連絡いたします。

成果報告は、平成 29 年度に公開する予定です。

*** 本拠点の共同研究による成果の発表**

本拠点の共同研究により成果を発表されるときは、下記のとおり「放射線災害・医科学研究拠点における共同研究」の成果である旨の表示をお願いいたします。「This work was supported by the Program of the Network-type Joint Usage/Research Center for Radiation Disaster Medical Science of Hiroshima University, Nagasaki University, and Fukushima Medical University」

*** 知的財産権**

本拠点の共同研究により生じた知的財産権の帰属は、関連する所属機関の間で協議し、決定してください。

*** 宿泊施設**

共同研究を実施するうえで広島大学または長崎大学の宿泊施設の利用を希望する場合は、照会願います。

*** その他**

利用にあたっては、ネットワーク型共同利用・共同研究拠点の各研究機関の関連規則を遵守してください。

問い合わせ窓口**広島大学**

〒 734-8553 広島市南区霞一丁目 2 番 3 号
広島大学霞地区運営支援部
研究支援グループ（拠点本部事務局）
082-257-5186

長崎大学

〒 852-8523 長崎市坂本 1 丁目 1 2 番 4 号
長崎大学医歯薬学総合研究科
総務課研究支援担当
095-819-7198

福島県立医科大学

〒 960-1295 福島市光が丘 1 番地
福島県立医科大学医療研究推進課
024-547-1041

平成28年度放射線災害・医科学研究拠点 共同利用・共同研究 申請数

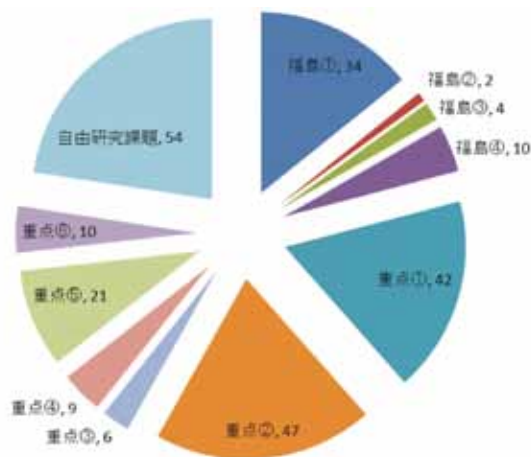


福島原発事故対応プロジェクト課題

- ①低線量・低線量率放射線の影響に関する研究
- ②内部被ばくの診断・治療法の開発
- ③放射線防護剤の開発研究
- ④放射線災害におけるリスクコミュニケーションのあり方等に関する研究

重点プロジェクト研究課題

- ①ゲノム損傷修復の分子機構に関する研究
- ②放射線発がん機構とがん治療開発に関する研究
- ③放射線災害医療開発の基礎的研究
- ④被ばく医療の改善に向けた再生医学的基礎研究
- ⑤放射線災害における健康影響と健康リスク評価研究
- ⑥RIの医療への応用



平成28年度 共同利用・共同研究成果報告集

発 行	平成 29 年 9 月
編集発行	放射線災害・医科学研究拠点
印 刷	株式会社ニシキプリント

