

放射線災害・医科学研究拠点  
平成29年度 共同利用・共同研究課題  
平成29年度 トライアングルプロジェクト  
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

|                               |     |
|-------------------------------|-----|
| I. 平成29年度共同利用・共同研究課題 .....    | 3   |
| II. 平成29年度トライアングルプロジェクト ..... | 177 |



## **I . 平成29年度共同利用・共同研究課題**



# 目次

|                                   |     |
|-----------------------------------|-----|
| 平成 29 年度共同利用・共同研究採択課題一覧           | 7   |
| 平成 29 年度共同利用・共同研究課題研究成果報告         |     |
| 福島原発事故対応プロジェクト課題                  | 23  |
| ①低線量・低線量率放射線の影響に関する研究             | 23  |
| ②内部被ばくの診断・治療法の開発                  | 49  |
| ③放射線防護剤の開発研究                      | 49  |
| 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 | 54  |
| 重点プロジェクト課題                        | 59  |
| ①ゲノム損傷修復の分子機構に関する研究               | 59  |
| ②放射線発がん機構とがん治療開発に関する研究            | 91  |
| ③放射線災害医療開発の基礎的研究                  | 116 |
| ④被ばく医療の改善に向けた再生医学的基礎研究            | 118 |
| ⑤放射線災害における健康影響と健康リスク評価研究          | 129 |
| ⑥ RI の医療への応用                      | 140 |
| 自由研究                              | 148 |
| ＜付録＞                              |     |
| 平成 29 年度共同利用・共同研究課題募集要項           | 173 |
| 採択状況                              | 176 |



## 平成29年度共同利用・共同研究採択課題一覧





## 平成29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（37件）

|       |                                                                                                                               |                       |                                         |                    |      |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------------|--------------------|------|
| 福1-1  | 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                                    | 大野 芳典              | 広島大学 |
| 福1-2  | 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1-3  | 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<br>研究開発機構                        | 鈴木 啓司              | 長崎大学 |
| 福1-4  | 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1-5  | 野生型マウスを用いた循環器への放射線影響の解析                                                                                                       | 浜田 信行                 | 電力中央研究所                                 | 東 幸仁               | 広島大学 |
| 福1-6  | 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1-7  | ガンマ線、炭素線および中性子線誘発マウス肺がんの病理組織学的な違い                                                                                             | 山崎 隼輔                 | 量子科学技術<br>研究開発機構                        | 鈴木 啓司              | 長崎大学 |
| 福1-8  | The impact of radiation accident factors on the pregnancy and the subsequent development of children after exposure in utero. | Alexander<br>Stojarov | Belarussian State<br>Medical University | Naomi<br>Hayashida | 長崎大学 |
| 福1-9  | マウスの最新データから見るDNAの損傷・回復の数値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1-10 | 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                                    | 大野 芳典              | 広島大学 |
| 福1-11 | 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<br>研究開発機構                        | 鈴木 啓司              | 長崎大学 |
| 福1-12 | 放射線災害時における低線量電子スピン共鳴(E.S.R)被ばく測定法を用いた長崎原発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1-13 | 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<br>長崎医療センター                      | 中島 正洋              | 長崎大学 |
| 福1-14 | 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1-15 | 低線量放射線前照射の寿命延長効果におけるバイオマーカーの解明                                                                                                | 岡崎 龍史                 | 産業医科大学                                  | 鈴木 啓司              | 長崎大学 |
| 福1-16 | 低線量放射線の繰り返し照射がマウス白血球発症リスクに及ぼす造血幹細胞への影響                                                                                        | 小嶋 光明                 | 大分県立看護科学大学                              | 鈴木 啓司              | 長崎大学 |
| 福1-17 | 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1-18 | 放射線発がんにおけるがん微小環境の役割                                                                                                           | 志村 勉                  | 国立保健医療科学院                               | 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 | 放射線照射によって生じるクラスターDNA二本鎖切断修復の解析                                                                             | 萩原 慶彦              | 群馬大学                                          | 山内 基弘           | 長崎大学      |
| 福1-20 | 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                                          | 大野 芳典           | 広島大学      |
| 福1-21 | モデルがん幹細胞の樹立とゲノム安定化機構の解明に関する研究                                                                              | 嶋本 顕               | 広島大学                                          | 笹谷めぐみ           | 広島大学      |
| 福1-22 | 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1-23 | 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1-24 | 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  |
| 福1-25 | 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1-26 | Apc <sup>Min/+</sup> マウスを用いた放射線誘発腫瘍の分子機構解明                                                                 | 李 建祥               | 蘇州大学                                          | 神谷 研二           | 広島大学      |
| 福1-27 | Effects of radiation on cardiac stem cells and cardiac repair                                              | Ke Cheng           | North Carolina State University               | Tao-sheng Li    | 長崎大学      |
| 福1-28 | 低線量率放射線に対する細胞応答と放射線適応応答との関連の検討                                                                             | 立花 章               | 茨城大学                                          | 保田 浩志           | 広島大学      |
| 福1-29 | 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1-30 | 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1-31 | 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1-32 | 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1-33 | 低線量率放射線長期連続照射マウスの胎仔・成体組織幹細胞でのゲノム不安定性誘導に関する研究                                                               | 山内 一己              | 環境科学技術研究所                                     | 鈴木 啓司           | 長崎大学      |
| 福1-34 | 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1-35 | 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1-36 | 低線量放射線のストレス・睡眠・生活習慣病・循環器疾患の発症との関連                                                                          | 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  |
| 福1-37 | The role of long non-coding RNAs (lncRNAs) in radiation-induced DNA damage response of cardiac stem cells. | Gangjian Qin       | The University of Alabama at Birmingham       | Tao-Sheng Li    | 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】

②内部被ばくの診断・治療法の開発（1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 | 笹谷めぐみ | 広島大学 |
|------|-------------------------------|------|------|-------|------|

【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（5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 | 天然由来成分 Piceatannol の放射線防護作用検討 | 中村 麻子 | 茨城大学                  | 笹谷めぐみ | 広島大学 |
| 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                  | 大野 芳典 | 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3-5 | 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<br>仙台オープン病院 | 中島 正洋 | 長崎大学 |

【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（6件）

|      |                                            |       |            |       |          |
|------|--------------------------------------------|-------|------------|-------|----------|
| 福4-1 | 福島原発事故後の自主参加型の内部被ばく検査結果の代表性に関する分析          | 野村 周平 | 東京大学       | 村上 道夫 | 福島県立医科大学 |
| 福4-2 | 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4-3 | 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4-4 | 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 | 大阪国際がんセンター | 大平 哲也 | 福島県立医科大学 |
| 福4-5 | 環境放射線管理のためのe-ラーニング教育プログラムの研究開発             | 小野 俊朗 | 岡山大学       | 保田 浩志 | 広島大学     |
| 福4-6 | 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（41件）

|      |                                                                                           |              |                      |                 |      |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|----------------------|-----------------|------|
| 重1-1 | 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 |
| 重1-2 | 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 |
| 重1-3 | 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1-4 | 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 |

| 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1-5  | 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      |
| 重1-6  | 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1-7  | 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1-8  | 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<br>研究開発機構                    | 中沢 由華           | 長崎大学      |
| 重1-9  | 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1-10 | 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1-11 | 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1-12 | 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1-13 | 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1-14 | 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                                | 笹谷めぐみ           | 広島大学      |
| 重1-15 | 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<br>研究所                    | 宮本 達雄           | 広島大学      |
| 重1-16 | 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1-17 | 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                               | 笹谷めぐみ           | 広島大学      |
| 重1-18 | 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1-19 | 放射線で生じる DNA 二重鎖切断による転写抑制と染色体不安定性機構                                                                                                                                                            | 宇井 彩子           | 東京工科大学                              | 山内 基弘           | 長崎大学      |
| 重1-20 | 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1-21 | 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                                | 笹谷めぐみ           | 広島大学      |
| 重1-22 | 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1-23 | 放射線照射により発生する DNA 二重鎖切断の修復におけるユビキチン E 3 ライゲースの機能解析                                                                                                                                             | 岡田麻衣子           | 聖マリアンナ医科大学                          | 山内 基弘           | 長崎大学      |
| 重1-24 | 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      |

| 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1-25 | コケイン症候群と紫外線高感受性症候群の分子病態解析                                                                                 | 賈 楠           | 名古屋大学                                                 | 中沢 由華        | 長崎大学      |
| 重1-26 | 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         | がん研究会<br>がん研究所                                        | 田代 聡         | 広島大学      |
| 重1-27 | 細胞核内アクチンと 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1-28 | 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1-29 | 転写依存的 DNA 鎖切断修復の解析                                                                                        | 倉岡 功          | 福岡大学                                                  | 田代 聡         | 広島大学      |
| 重1-30 | 放射線が細胞内 DNA 損傷修復モードに与える影響                                                                                 | 篠原 美紀         | 近畿大学                                                  | 田代 聡         | 広島大学      |
| 重1-31 | 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1-32 | 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1-33 | 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1-34 | 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1-35 | 動物モデルを使った放射線により誘発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1-36 | 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                                                                              | 廣末 晃之         | 熊本大学                                                  | 金井 昭教        | 広島大学      |
| 重1-37 | The effect of radiation exposure on cardiac Sca-1-Bmi-1hi niche cells                                     | Yucan Xie     | Shanghai Ruijin Hospital                              | Tao-sheng Li | 長崎大学      |
| 重1-38 | The phosphorylation-specific association of Stathmin1 and DNA damage response in breast cancer metastasis | Xiaying Kuang | The First Affiliated Hospital, Sun Yat-Sen University | Tao-Sheng Li | 長崎大学      |
| 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 | 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1-41 | コリン欠乏食による遺伝子発現、およびゲノムメチル化に与える影響                                                                           | 矢中 規之         | 広島大学                                                  | 金井 昭教        | 広島大学      |

【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 (35 件)

|      |                                    |       |      |       |      |
|------|------------------------------------|-------|------|-------|------|
| 重2-1 | 造血器悪性腫瘍の発症・進展に関与するゲノム・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2-2 | 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 | 中田雄一郎 | 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2-3  | 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      |
| 重2-4  | 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2-5  | 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2-6  | 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2-7  | 放射線誘発肝がん原因遺伝子の探索                                                                                                                                                                                                   | 尚 突                | 量子科学技術研究開発機構                                                                | 鈴木 啓司           | 長崎大学      |
| 重2-8  | 放射線誘発肝がん発症メカニズムの解明                                                                                                                                                                                                 | 森岡 孝満              | 量子科学技術研究開発機構                                                                | 鈴木 啓司           | 長崎大学      |
| 重2-9  | 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2-10 | Comparative study of the relationship between oxyphilic cell metaplasia, BRAFV600E mutation, and postoperative prognosis in radiogenic and sporadic Ukrainian papillary thyroid carcinomas in different age groups | Zurnadzhy Liudmyla | VP Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of NAMS of Ukraine | Saenko Vladimir | 長崎大学      |
| 重2-11 | 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2-12 | Molecular mechanisms of progression of radioactive iodine-refractory thyroid cancer: implication of mutational profile into treatment outcome and prognosis                                                        | Rumiantsev Pavel   | Endocrine Research Center                                                   | Saenko Vladimir | 長崎大学      |
| 重2-13 | 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      |
| 重2-14 | 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2-15 | 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の関連性                                                                                                                                                                                      | 新美 敦子              | 群馬大学                                                                        | 山内 基弘           | 長崎大学      |
| 重2-16 | Utx の形質細胞における役割の解析                                                                                                                                                                                                 | 三村 尚也              | 千葉大学                                                                        | 中田雄一郎           | 広島大学      |
| 重2-17 | 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                                                                    | 笹谷めぐみ           | 広島大学      |
| 重2-18 | 放射線応答性発現因子 MICA 発現の、DNA 修復因子による発現調節機構                                                                                                                                                                              | 中島菜花子              | 量子科学技術研究開発機構                                                                | 山内 基弘           | 長崎大学      |
| 重2-19 | <sup>90</sup> 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                                                                                                                                                         | 淵上 剛志              | 長崎大学                                                                        | 西 弘大            | 長崎大学      |
| 重2-20 | 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2-21 | モデル生物を用いた Rad タンパク質の放射線発がん、修復機構における役割                                                                                                                                                                              | 宮本 昌明              | 神戸大学                                                                        | 松田 尚樹           | 長崎大学      |
| 重2-22 | 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      |

| 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2-23 | 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2-24 | 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2-25 | 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                                 | 笹谷めぐみ           | 広島大学      |
| 重2-26 | 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2-27 | 新規放射線増感剤 SQAP を使用した悪性胸膜中皮腫治療の動物モデルによる研究                                                                            | 永安 武             | 長崎大学                                    | 山内 基弘           | 長崎大学      |
| 重2-28 | YAP メカノホメオスタシス機構解明による新規がん治療法の開発                                                                                    | 清水 誠             | 山口大学                                    | 松浦 伸也           | 広島大学      |
| 重2-29 | 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2-30 | 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                                                                                   | 高島 賢             | 量子科学技術研究開発機構                            | 笹谷めぐみ           | 広島大学      |
| 重2-31 | 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2-32 | 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      |
| 重2-33 | 放射線による味覚障害メカニズムの研究                                                                                                 | 小西 勝             | 広島大学                                    | 松浦 伸也           | 広島大学      |
| 重2-34 | 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                                | 中田雄一郎           | 広島大学      |
| 重2-35 | 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（3件）

|      |                                                                           |               |                                                |              |          |
|------|---------------------------------------------------------------------------|---------------|------------------------------------------------|--------------|----------|
| 重3-1 | 細胞質内での ATM 活性化機構の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3-2 | 環境放射線による放射線施設監視モニタの感度確認                                                   | 安岡 由美         | 神戸薬科大学                                         | 石川 徹夫        | 福島県立医科大学 |
| 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（12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 | 造血幹細胞移植合併症に対する間葉系幹細胞由来細胞外小胞の組織修復効果の検討 | 藤井 紀恵 | 京都大学 | 一戸 辰夫 | 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4-3  | 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4-4  | X線照射の神経軸索伸長過程に及ぼす影響の解析                                                                | 加藤 真介              | 横浜薬科大学                         | 松田 尚樹           | 長崎大学      |
| 重4-5  | 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4-6  | A cross-cultural research of quality of life among medical staff in Japan and Belarus | Tamara Sharshakova | Gomel State Medical University | Naomi Hayashida | 長崎大学      |
| 重4-7  | 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4-8  | 循環疾患における再生医療に関する研究                                                                    | 木原 康樹              | 広島大学                           | 東 幸仁            | 広島大学      |
| 重4-9  | 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4-10 | 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      |
| 重4-11 | 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4-12 | 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（12件）

|      |                                                                                                                                                                 |                |                                                      |                 |          |
|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|------------------------------------------------------|-----------------|----------|
| 重5-1 | 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5-2 | 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史の基礎的研究                                                                                                                        | 飯田香穂里          | 総合研究大学院大学                                            | 久保田明子           | 広島大学     |
| 重5-3 | 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 | 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5-5 | 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5-6 | 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：福島県県民健康調査                                                                                                                          | 池田 里美          | 順天堂大学                                                | 大平 哲也           | 福島県立医科大学 |
| 重5-7 | 小学児童における睡眠状態とメンタルヘルスとの関連                                                                                                                                        | 鈴木 洋平          | 順天堂大学                                                | 大平 哲也           | 福島県立医科大学 |
| 重5-8 | 放射線影響に対する環境エンリッチメントの効果                                                                                                                                          | 横溝 真哉          | 量子科学技術研究開発機構                                         | 鈴木 啓司           | 長崎大学     |
| 重5-9 | Mobile Screening for metabolic and thyroid disorders and other External agents as possible associated factors for persisting thyroid malignancy incidence level | Maxim Lushchyk | Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education | 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5-10 | 摂食・うつ不安に関連する神経センサーに関する研究            | 斎藤祐見子   | 広島大学        | 宮本 達雄 | 広島大学      |
| 重5-11 | 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      | 田代 聡  | 広島大学      |
| 重5-12 | 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  |

【重点プロジェクト課題】

⑥ R I の医療への応用 (10 件)

|       |                                                   |       |      |       |          |
|-------|---------------------------------------------------|-------|------|-------|----------|
| 重6-1  | シグマ受容体をターゲットにした $^{123}\text{I}$ -標識脳神経機能診断薬の開発研究 | 柴 和弘  | 金沢大学 | 松田 尚樹 | 長崎大学     |
| 重6-2  | アミノ酸代謝を菌活性化の指標とする感染症画像診断薬の開発                      | 小林 正和 | 金沢大学 | 西 弘大  | 長崎大学     |
| 重6-3  | 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6-4  | 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  | 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6-6  | 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              | 山口 藍子 | 群馬大学 | 織内 昇  | 福島県立医科大学 |
| 重6-7  | アルファ線内照射治療における放射線線量測定技術開発                         | 松尾 信郎 | 金沢大学 | 工藤 崇  | 長崎大学     |
| 重6-8  | 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6-9  | PET-MR 複合装置による PET 画像の画質改善に関する研究                  | 高橋 康幸 | 弘前大学 | 織内 昇  | 福島県立医科大学 |
| 重6-10 | 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 |

【自由研究課題】 (35 件)

|     |                                                             |         |          |       |      |
|-----|-------------------------------------------------------------|---------|----------|-------|------|
| F-1 | レギュラトリーサイエンスを導入した放射線教育教材開発                                  | 杉田 克生   | 千葉大学     | 永山 雄二 | 長崎大学 |
| F-2 | 53BP1 expression in endometriosis-associated ovarian cancer | カーン カレク | 京都府立医科大学 | 中島 正洋 | 長崎大学 |
| F-3 | 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 |
| F-4 | 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-5 | 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 |

| 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-6  | 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-7  | 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   | 九州大学           | 中田雄一郎 | 広島大学      |
| F-8  | 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         | 中田雄一郎 | 広島大学      |
| F-9  | 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-10 | 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-11 | 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-12 | 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-13 | 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-14 | 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  |
| F-15 | 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-16 | 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-17 | 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           | 中田雄一郎 | 広島大学      |
| F-18 | 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-19 | センダイウイルス C タンパク質と複数の標的因子間の相互作用を阻害する化合物の探索     | 小田 康祐   | 広島大学           | 川上 秀史 | 広島大学      |
| F-20 | 緊急被ばく医療活動時における情報共有システム構築に関する研究                | 貞森 拓磨   | 広島大学           | 廣橋 伸之 | 広島大学      |
| F-21 | 放射線による骨髄抑制における好中球の機能分化メカニズムの変動解明              | 志馬 伸朗   | 広島大学           | 廣橋 伸之 | 広島大学      |
| F-22 | iPS 細胞を用いた内耳再生研究へのゲノム編集技術の応用                  | 大西 弘恵   | 京都大学           | 宮本 達雄 | 広島大学      |
| F-23 | 消化器癌に対する circulation tumor DNA の解析            | 茶山 一彰   | 広島大学           | 金井 昭教 | 広島大学      |
| F-24 | 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-25 | 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-26 | 脳腫瘍の WHO 診断のための臨床研究                   | 山崎 文之   | 広島大学        | 松浦 伸也 | 広島大学      |
| F-27 | 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-28 | 心臓血管系の形成・維持機構の解明                      | 吉栖 正生   | 広島大学        | 保田 浩志 | 広島大学      |
| F-29 | AMPK 活性化と GSK3 $\beta$ 阻害による肝癌制御の基礎検討 | 玉田 陽子   | 長崎大学        | 永山 雄二 | 長崎大学      |
| F-30 | 褐色脂肪細胞分化におけるエピジェネティック調節機構の解明          | 大野 晴也   | 広島大学        | 金井 昭教 | 広島大学      |
| F-31 | MLL 白血病のメカニズム                         | 横山 明彦   | 国立がん研究センター  | 金井 昭教 | 広島大学      |
| F-32 | 遺伝子発現誘導系の確立                           | 藤井 輝久   | 広島大学        | 田代 聡  | 広島大学      |
| F-33 | インテグリン $\alpha 9\beta 1$ のリガンドスクリーニング | 横崎 恭之   | 広島大学        | 松浦 伸也 | 広島大学      |
| F-34 | 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-35 | アトピー性皮膚炎由来黄色ブドウ球菌と自然免疫の解析             | 岩本 和真   | 広島大学        | 宮本 達雄 | 広島大学      |



**平成29年度共同利用・共同研究課題  
研究成果報告**



## 福1-1

## 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：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やす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。昨年度は、低線量率放射線照射下で4週から8週飼育したC57BL/6NJclマウスからFACS Ariaを用いて造血幹細胞を分取し、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。本年度は、さらに解析を進め低線量・低線量率被ばくが造血幹細胞の未分化性維持に影響を与えることを明らかにした。今後は、この影響の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) Ohno Y, Suzuki-Takedachi K, Shirasu N, Yasunaga

S, Takiyama Y, Tissue reaction in the bone marrow.  
Radiat Biol Res Commun., 52(4) 336-349, 2017.



## 福1-2

### 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起こ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。

本年度も、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を行い、この実験系を用いることで放射線終発型の変異を区別できる可能性を見出した。今後は実験系のさらなる改善を進める予定である。

#### 発表論文

Nagashima, H., Shiraishi, K., Ohkawa, S., Sakamoto, Y., Komatsu, K., Matsuura, S., Tachibana, A., Tauchi, H.: Induction of somatic mutations by low dose X-rays: the challenge in recognizing radiation-induced events. J. Radiat. Res. *in press*, 2018.

## 福1-3

### 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：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ている。

本年度 (H29 年度) 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、継続的に乳腺組織を採取し、ホルマリン中で固定した後、パラフィン包埋薄切切片を長崎大学に送付し、長崎大原研の画像解析装置にて解析した。その結果、乳腺における細胞回転の存在の可能性が見えてきた。

今後は、より多くの分化マーカー等の抗体を用いて細胞回転・細胞排除について詳細な解析を行う予定である。

#### 発表論文

今岡達彦ほか (2017) 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 25：15-25

## 福1-4

## 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の直線モデル (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および同モデルを適用し、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、環境科学技術研究所で行われた長期連続照射マウスの寿命短縮実験について数理モデルを構築して解析し、また、福島県で行われている甲状腺がんに関する県民健康調査の結果を佐藤と協力して解析し、論文を作成した。現在、より詳細な解析を検討している。

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、がんのメカニズム解明を目指すと共に、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：マウスにおける放射線による寿命短縮の数理的解析，和田隆宏，衣川哲弘，真鍋勇一郎，坂東昌子，日本物理学会 2017 年秋季大会，盛岡市，2017 年 9 月 21 日～24 日

## 福1-5

## 野生型マウスを用いた循環器への放射線影響の解析

## 研究組織

共同研究代表者：浜田 信行

(電力中央研究所原子力技術研究所：主任研究員)

共同研究者：野村 崇治

(電力中央研究所原子力技術研究所：主任研究員)

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・研究成果・今後の展望等

国際放射線防護委員会は、2011 年に、循環器疾患のしきい線量を線量率に依らず 0.5Gy と初めて勧告した。疫学研究から放射線被ばくの循環器疾患リスクが示されているが、その生物機構は不明である。ApoE 欠損マウスなどの病態モデルは、循環器疾患を発症するが、低線量・低線量率放射線影響の研究に使用してもホルミシス効果の解析となる。そのため、本研究では、前病変となる循環器の機能や構造の変化を野生型マウスで解析する。

本研究の初年度である 2017 年度は、予備実験として、照射マウスと非照射マウスの心エコー検査、大血管の走査電子顕微鏡解析、心臓や腎臓などの試料採取を実施し、その結果を解析中である。予備実験の結果を踏まえて、2018 年度は、本実験を開始する。

## 発表論文

なし

## 福1-6

### 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：桧垣 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

今年度も、福島県内の2地点の水田を対象に研究を行った。

- ・地点1：平成29年6月14日、8月23日の2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月14日、6月18日、7月22日、8月30日の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月下旬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一方で、土壌および用水中の放射性セシウム濃度には濃度増加も含んだ季節的な変動があることを観測した。また、土壌中のセシウムを含むアルカリ金属元素およびカルシウム濃度は、時間の経過と共に減少していた。このことから、コメの生長により放射性セシウムは同族元素とともにイネへ吸収されている可能性がある。

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)を超えず、物理学的減衰を考慮しても昨年よりも低い値になっていた。

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ているが、本稿締切後の平成30年3月28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う。

次年度以降も、試料採取および測定を継続する予定であ

る。

#### 発表論文

現在、投稿準備中である。

## 福1-8

***The impact of radiation accident factors on the pregnancy and the subsequent development of children after exposure in utero.*****Research organization:**

Representative Joint Researchers: Alexander Stojarov (Professor: Department of Radiation Medicine and Ecology, Belarus State Medical University, Minsk, Belarus)

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

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

**Contents, Results and Prospects of Study:**

The authors investigated the morbidity rates in women – residents of the Republic of Belarus Brest region, exposed to radioactive iodine <sup>131</sup>I in April 1986. Also we focused on the health profiles of children born after these pregnancies. Thyroid absorbed doses (TAD) in women ranged from 0.01 to 4.0 Gy ( $0.053 \pm 0.004$  Gy), that in children – from 0.001 to 0.19 Gy ( $0.032 \pm 0.003$  Gy). The women average age at the Chernobyl accident time-point was  $26.25 \pm 0.39$ . 20-25 years later, according to our estimate, they presented the rising somatic morbidity rates, related to the most common nosological forms. The highest rise in the incidence rate was relevant to cardiovascular diseases, notably arterial hypertension, and was observed upon low levels of the registered TAD. We revealed the strict dose-effect relationship in the clinical presentation of nervous system disorders, hypertension with the peak incidence upon the TAD of 0.2 Gy, and two peaks for the digestive system disorders upon the TAD of 0.2 Gy and 0.8 Gy. These findings can be accounted for the enhanced genome instability of the thyroid cellular lineage due to <sup>131</sup>I effect with the subsequent women menopausal hormonal changes.

Evaluation of the post-traumatic stress disorder (PTSD) degree in the exposed women was based on the .PCL-S and K6 tests employment. The Belarusian cohort

of women appears not to show evident relationship between PTSD degree and psychological distress. The latter finding is deemed to be referred to the smoothness of the experiences at a 30-year time-point after the Chernobyl accident. Women, who were at various stages of pregnancy in 1986, demonstrate sleep disorders as a prevailing set of symptoms.

To complete the study, the authors target to analyze health signs, morbidity rates in the Brest region cohort of women, who, being permanent residents of this region, got pregnant in 1987-1988, and to evaluate health profile of children born after these pregnancies without any exposure to I-131. It is strongly believed, that comparative analysis of the matching groups profiles might elucidate effects associated with ionizing radiation impact.

**Presented papers:**

1. Stozharov A., Hayashida N., Takahashi J. Psihometricheskij analiz dannyh anketirovaniya vyrazhennosti posttravmaticheskogo stressa u zhenshchin, obluchennyh vo vremya beremennosti v rezul'tate avarii na CHAEHS. – Sbornik materialov Respublikanskoj nauchno-prakticheskoy konferencii s mezhdunarodnym uchastiem «Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda», posvyashchennoj 90-letiyu Respublikanskogo unitarnogo predpriyatiya «Nauchno-prakticheskij centr gigieny», Minsk, 2017, vol.1., 96-100.
2. Alexander N. Stojarov, Naomi Hayashida, Darya A.Odinzova-Stozharova, Izumi Yamaguchi, Jumpei Takahashi. The psycho-emotional status of women irradiated during pregnancy due to incorporation of radioactive iodine (in preparation).

## 福1-9

### 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、引き続き、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1-10

### 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

(別府大学食物栄養学部：教授)

受入研究代表者：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来たが、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。昨年度は、Geminin-EYFP ノックインマウスを用いた解析で、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。さらに、低線量率放射線照射したマウスの未分化造血細胞 (c-Kit<sup>+</sup>, Sca-1<sup>+</sup>, Lineage<sup>-</sup>: KSL 細胞) と造血前駆細胞を用いた解析により、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た。そこで本年度、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するための実験の樹立を目指した。今後は樹立した解析法を用いて、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

Ohno Y, Suzuki-Takedachi K, Shirasu N, Yasunaga S, Takiyama Y, Tissue reaction in the bone marrow. *Radiat Biol Res Commun.* 52(4) 336-349, 2017.



## 福1-11

## 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 明德

(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・低線量放射線被ばくによる健康影響を評価する上で重要なことの1つに、放射線被ばくによるDNA損傷と普段の生理的条件下で起きている内在性の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。そこで、本研究では、放射線被ばくに特有とされるクラスターDNA損傷の生成機構とその生物学的意義の解明を目的とする研究を計画した。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損傷の直接的な可視化は不可能であるが、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、放射線被ばく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。また、DNA損傷生成初期過程のモデルの改良を進めるとともに、損傷修復モデルの開発を実施した。

## 発表論文

1. 渡辺立子, 甲斐健師, 服部佑哉, 計算機シミュレーションによる放射線生物作用の初期過程の研究, RADIOISOTOPES, 66(11), 525-530, 2017-11 (2017)
2. T. Kai, A. Yokoya, M. Ukai, K. Fujii, T. Toigawa,

R. Watanabe, A significant role of non-thermal equilibrated electrons in the formation of deleterious complex DNA damage, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 20, 2838-2844 (2018)

## 福1-12

### 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：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について、被爆状況、被ばく線量などのデータベース化を行っている。(2) 長崎原爆被爆者より提供された208名、343本の歯について、90本の抜歯試料の頬側と舌側の被ばく線量評価を行っている。(3) 特に、遠距離やこれまでに線量評価が困難とされている工場での被ばく線量の評価を進めている。これまでに、抜歯試料による被ばく線量と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パラメータに関する研究成果が得られている。

今後は、引き続き長崎原爆被爆者の抜歯試料を順次 ESR 測定を行う。福島における抜歯飼料の収集と線量評価を推進する。また ESR スペクトル解析により低線量 ESR 被ばく測定法の改良により、被ばく線量推定の精度を向上させる技術の確立を目指す。

#### 発表論文

- 1) 島崎達也, 川原 修, 横田賢一, 白石善興, 松田尚樹, 岡田誠治: ESR 線量測定法を用いた低線量被ばく線量評価における医療放射線の影響, 日本保健物理学会第50回研究発表会予稿集, 124, 2017.
- 2) 島崎達也, 川原 修, 横田賢一, 白石善興, 松田尚樹, 岡田誠治: 低線量被ばく評価に用いる ESR 線量測定における医療放射線の影響, 日本放射線影響学会第50回研究発表会予稿集, 124, 2017.

- 3) Shimasaki, T., Yokota, K., Mine, M., Shiraishi, Y., Gotoh, K., Matsuda, N. and Okada, S., Radiation dose estimation by ESR dosimetry with tooth enamel for residents of Nagasaki and Fukushima in Japan, The 43th Annual Meeting of European Radiation Research Society, 337, 2017.
- 4) 島崎達也, 白石善興, 横田賢一, 川原 修, 松田尚樹, 岡田誠治: 歯エナメル ESR 計測による低線量被ばく線量評価について, ESR 応用計測, 第34巻18, 2018.

## 福1-13

## 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亜型分類、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Endocrine Jに掲載された(Endocr J 2017)。引き続き福島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の論文化を行い、投稿準備中である。

今後は、これまでの結果を統合し、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

1) 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. Endocr J. 2017 Oct 28; 64(10):977-993.

2) Takada N, Hirokawa M, Ito M, Ito A, Suzuki A, Higuchi M, Kuma S, Hayashi T, Kishikawa M, Horikawa S, Miyauchi A. Papillary thyroid carcinoma with desmoid-type fibromatosis: A clinical, pathological, and immunohistochemical study of 14 cases. Endocr J. 2017 Oct 28; 64(10):1017-1023.



## 福1-14

### 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 真一

(福島県立医科大学甲状腺内分泌：教授)

共同研究者：鈴木 聡

(福島県立医科大学甲状腺内分泌：講師)

岩館 学

(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

本年度は、11例の試料を長崎大学へ送付し、解析を施行中である。これまでと同様、既知の遺伝子変異解析、融合遺伝子に関しては稀なもの、未知のものもある程度検出できる方法を用いて解析を行っている。福島医大側では、臨床データや免疫染色のデータを追加し、併せて結果をまとめていく予定である。

#### 発表論文

Iyama K, Matsuse M, Mitsutake N, Rogounovitch T, Saenko V, 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*. 2017 Jun;27(6):811-818. doi: 10.1089/thy.2016.0673. (昨年度に報告済み、正式出版がH29年度となった)

## 福1-15

### 低線量放射線前照射の寿命延長効果におけるバイオマーカーの解明

#### 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放射線健康医学：教授)

共同研究者：香崎 正宙

(産業医科大学産業生態科学研究所放射線健康医学：学内講師)

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

福島原発作業員は現在でも 20 mSv 未満の低線量被曝を受ける。低線量被曝の生物影響を科学的に証明することは困難であるが、唯一放射線適応応答は科学的データを示すことが可能である。適応応答という現象は、様々な変異源でもみられる。飲酒や喫煙による影響も鑑みると、ヒトにおける低線量による影響を見る上で有用な手法である。

p53 遺伝子正常マウスでは、20 mGy の前照射ののち 3 Gy 照射すると、3 Gy 単独よりも寿命が延長し、p53 ヘテロマウスでは寿命延長はなかったことを報告した。今回研究では p53 遺伝子正常マウス 8 週齢マウスを用いて、0 Gy、0.02Gy、3 G 及び 0.02 + 3 Gy (時間間隔 96 時間) 全身照射したのち、照射 24 時間後において血清より microRNA 採取した。microRNA ヒートマップで明らか違いを見ることができた。現在、候補となりそうな microRNA に対して、Real time PCR にて解析を行う。

今後は、40 週齢における microRNA を測定する予定である。8 週齢と 40 週齢で同じような microRNA の候補が出るのか、あるいは発がんに関与する別々の候補が出るのかを解析し、放射線のバイオマーカーとなりうるか検討する。

#### 発表論文

Okazaki R, Ohga K, Yoko-O M, Kohzaki M, A Survey about the Radiation Effects and a Health Survey of Fukushima Inhabitants after the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant Accident. *J UOEH*, 2017, 39: 277-290.

## 福1-16

## 低線量放射線の繰り返し照射がマウス白血病発症リスクに及ぼす造血幹細胞への影響

## 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：准教授)

共同研究者：恵谷 玲央

(大分県立看護科学大学：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

本研究では放射線発がんの代表例である急性骨髄性白血病 (rAML) に着目し、この実験マウスである C3H/HeNjcl 雌マウスに 1 Gy の X 線を 1 回照射した場合と、その線量を 0.1 ～ 0.2 Gy に分割して繰り返し照射した場合とで、骨髓細胞に生じる染色体異常の発生頻度に差が生じるか否かを検討した。その結果、同じ 1 Gy であっても 0.1Gy および 0.2Gy に分割して繰り返し照射することにより二動原体染色体の発生頻度が減少することがわかった。また、分割した線量の違いに統計的有意差はなかったが、染色体異常が分割線量に依存している傾向が見られた。よって、0.1 ～ 0.2 Gy の繰り返し照射に染色体異常の低減効果があることがわかった。今後、rAML に必須な異常である 2 番染色体の欠失型異常でも同様の現象が見られるか検討し、放射線の繰り返し照射による放射線発がんのリスクを考えていく必要性が考えられた。

## 発表論文

特になし

## 福1-17

## 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アイソ

トープ研究センター：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：特任教授)

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、C57BL/6-  $Apc^{Min/+}$  マウス (♂) と C3H マウス (♀) から作出した  $Apc^{Min/+}$  (F1) マウスに、生後 2 週齢でトリチウム水を 90 MBq 腹腔内投与した。このトリチウム量は 1 週間で 3 Gy 被曝する放射能である。トリチウム水投与 4 週間後のマウスの体重は、コントロールに対して有意に体重増加の抑制が観察された。19 週齢に達する年度末まで飼育して体重、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腫瘍数を計測し、非照射群の値と比較・検討する。また、トリチウム水を投与したマウスの小腸から腫瘍細胞を採取し、遺伝子変異の解析を行う。

今後は、トリチウム水の放射能を変え、同様に実験を行う。

## 発表論文

Hiroshi Tauchi, Megumi Toyoshima-Sasatani, Haruki Nagashima, Tsutomu Shimura, Toshiyuki Umata, Akira Tachibana, Tritium biology in Japan: A search for a new approach, Fusion Engineering and Design, 2018, March

## 福1-18

## 放射線発がんにおけるがん微小環境の役割

## 研究組織

共同研究代表者：志村 勉

(国立保健医療科学院：上席主任研究官)

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：特任教授)

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)

受入研究者：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

結合組織を構成する線維芽細胞は、液性因子を細胞外に放出し周辺部の細胞に作用することが知られている。がん組織に含まれる線維芽細胞は、がん関連線維芽細胞(Cancer Associated Fibroblasts:CAF)と呼ばれ、正常な線維芽細胞と異なる形態を示し、がん細胞が生育しやすい環境を作ること、発がんに関与することが報告されている。我々は、放射線発がんにおけるがん微小環境の役割についての解析を行った。ヒト正常線維芽細胞では、1か月にわたる長期の分割放射線照射後、紡錘状の形態とは異なる平べったい大きな細胞が現れ、そのような細胞では、活性化された線維芽細胞(筋線維芽細胞)とCAFの指標として知られる平滑筋用のアクチン(alpha-SMA)や血小板由来成長因子受容体(PDGFR)が発現していることを明らかにした。我々はこれまでの解析から、長期分割照射の標的は、エネルギー生産を担うミトコンドリアで、ミトコンドリアから発生する活性酸素が、核やミトコンドリアに慢性的に損傷を誘導することを明らかにした。長期分割照射後にalpha-SMAが発現している細胞では、ミトコンドリアの膜電位の低下や酸化ストレス応答が観察される。抗酸化剤N-アセチルシステインを分割照射の間処理することによって、放射線による筋線維芽細胞の出現が抑制される。以上のことから、ミトコンドリアの酸化ストレスが放射線による筋線維芽細胞の出現に関与することを明らかにした。さらに、筋線維芽細胞の発生には、TGF- $\beta$ シグナル経路が関与することを明らかにした。放射線照射した線維芽細胞では、ヌードマウスを用いたヒト腫瘍片の解析により、腫瘍血管の形成を促進し、腫瘍の増殖を促進することを明らかにした。

以上のことから、放射線は、標的細胞のがん化に寄与するだけでなく、がんの微小環境の形成に作用することを明

らかにした。放射線による筋線維芽細胞の形成には、ミトコンドリア活性酸素によるTGF- $\beta$ シグナル経路の活性化が関与する。

今後は、低線量での放射線発がんにおける、がん微小環境の役割についての解析を進めていきたい。

## 発表論文

- (1) Shimura T, Sasatani M, Kawai H, Kamiya K, Kobayashi J, Komatsu K, Kunugita N. ATM-mediated mitochondrial damage response triggered by nuclear DNA damage in normal human lung fibroblasts. *Cell Cycle*. 2017;16 (24):2345-2354
- (2) Sasatani M, Xi Y, Kajimura J, Kawamura T, Piao J, Masuda Y, Honda H, Kubo K, Mikamoto T, Watanabe H, Xu Y, Kawai H, Shimura T, Noda A, Hamasaki K, Kusunoki Y, Zaharieva EK, Kamiya K. Overexpression of Rev1 promotes the development of carcinogen-induced intestinal adenomas via accumulation of point mutation and suppression of apoptosis proportionally to the Rev1 expression level. *Carcinogenesis*. 2017;38(5):570-578.
- (3) 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* 2017;16 (6):565-573.
- (4) 志村勉、樺田尚樹 ミトコンドリアの放射線応答と放射線発がんへの影響 放射線生物研究 2017 ; 52 : 183-193.
- (5) Shimura T Targeting the AKT/cyclin D1 pathway to overcome intrinsic and acquired radioresistance of tumors for effective radiotherapy *International Journal of Radiation Biology* 2017;93(4):1-5, 2017.

## 福1-19

放射線照射によって生じるクラスター DNA  
二本鎖切断修復の解析

## 研究組織

共同研究代表者：萩原 慶彦

(群馬大学大学院医学系研究科:博士課程大学院生)

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。しかし一方で、どのような DSB 修復因子が、どの程度放射線照射後の細胞生存率に寄与するかについては未だ多くが明らかになっていない。そこで本研究では、申請者所属研究室が所有する DSB 関連分子 siRNA ライブラリー (約 100 種類) を用い、U2OS 細胞株における各 siRNA 処理後の細胞生存率を評価することで、各遺伝子の DSB 修復及び細胞生存率への寄与相関を検討する。

放射線照射後の細胞生存率には DSB 修復が関わることは明らかである一方、近年の DNA 修復研究の発展により、様々な DSB 修復因子が同定されつつある。申請者らは 2016 年までの最新の知見をもとに、DSB 修復に関わるタンパク質をターゲットとした siRNA ライブラリーを独自に構築した。本年度は、U2OS 細胞株に対して約 50 遺伝子のノックダウンを行い、2 または 6 Gy 照射後、24, 48, 72 時間後に細胞を固定し、DAPI 染色を行った。DAPI 染色画像により、微小核および mitotic catastrophe の頻度を測定した。現在、NHEJ 遺伝子群、HR 遺伝子群、細胞周期チェックポイント遺伝子群に分け、それぞれの特徴を解析している。また、本測定を自動化するため、新たな自動化測定方法の開発を試みている。本研究は、被爆または放射線治療時の細胞の遺伝子状態が、どの程度細胞生存に影響を及ぼすかを予測することに役立つと考えている。

## 発表論文

1. Hiro Sato, Atsuko Niimi, Takaaki Yasuhara, Tiara Bunga Mayang Permata, Yoshihiko Hagiwara, Mayu Isono, Endang Nuryadi, Ryota Sekine, Takahiro Oike, Sangeeta Kakoti, Yuya Yoshimoto, Kathryn D. Held, Yoshiyuki Suzuki, Koji Kono, Kiyoshi Miyagawa, Takashi Nakano and Atsushi Shibata\*, DNA double-

strand break repair pathway regulates PD-L1 expression in cancer cells, Nature Communications, 8(1):1751, 2017. IF: 12.124, \*Corresponding author

2. Yoshihiko Hagiwara, Atsuko Niimi, Mayu Isono, Motohiro Yamauchi, Takaaki Yasuhara, Siripan Limsirichaikul, Takahiro Oike, Hiro Sato, Kathryn D. Held, Takashi Nakano and Atsushi Shibata\*, 3D-structured illumination microscopy reveals clustered DNA double-strand break formation in widespread  $\gamma$ H2AX foci after high LET heavy-ion particle radiation. Oncotarget, 8:109370-109381, 2017. \*Corresponding author



## 福1-20

### 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)

共同研究者：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：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。昨年度は低線量率放射線下でC57BL/6Njclマウスを4週間飼育した、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<sup>+</sup> Sca1<sup>+</sup> lineage marker<sup>-</sup> (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いことを明らかにした。本年度は、低線量率放射線被ばくした造血幹細胞の移植実験から、ミエロイド系細胞への分化は行われるが、リンパ球系細胞が十分に分化しないことを明らかにした。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、この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

Ohno Y, Suzuki-Takedachi K, Shirasu N, Yasunaga S, Takihara Y, Tissue reaction in the bone marrow. *Radiat Biol Res Commun.*, 52(4) 336-349, 2017.

## 福1-21

### モデルがん幹細胞の樹立とゲノム安定化機構の解明に関する研究

#### 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)

共同研究者：木根原 匡希

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院：特任助教)

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

(研究内容) がん幹細胞の休眠はがん再発の原因であり、がん幹細胞の休眠維持及びゲノム維持機構の解明は、新しいがん治療戦略の観点から非常に重要である。本共同研究は、新しい治療標的として注目されているがん幹細胞のゲノム安定性の維持機構に焦点を当て、放射線の照射ががん幹細胞の生存、ゲノムのインテグリティ維持にどのような影響を及ぼすのかを明らかにすることを目的とする。

(研究成果) がん幹細胞の *in vitro* 休眠・再発モデルを確立するため、ヒト正常線維芽細胞にドキシサイクリン (Dox) 依存的に発現する山中4因子及びSV40LTを導入し、iPS細胞樹立法によりDox存在下で細胞株を樹立した。これらはDox存在下で多能性遺伝子を発現し増殖するが、Dox非存在下では多能性遺伝子の発現減少とともに増殖を停止したことから、iPS細胞とは異なり不完全に初期化された細胞であると考えられる。さらにDox存在下 *in vitro* でスフェアを、*in vivo* で腫瘍を形成することから誘導性がん幹細胞 (iCSC) と命名した。

iCSCはDox除去で分裂を停止して扁平肥大化し、Doxを再添加すると効率的且つ速やかに多能性遺伝子の発現誘導をともなう分裂を再開した。分裂停止したiCSCは、1) 低レベルでSOX2などの多能性遺伝子を発現し、2) 老化した線維芽細胞と比較してG0期の維持に参与するCDKi p27, p57 及び p18を高発現し、3) さらに老化細胞では発現が喪失しているラミンB1の発現を維持していたことから、G0期に静止していると考えられる。

以上の結果から、誘導性がん幹細胞を用いてDox非存在下で休眠状態を誘導し、Doxの添加によって増殖を再開することが可能な、休眠・再発の *in vitro* モデルの確立に成功した。

(今後の展望等) 今後は増殖期と休眠期における放射線を含む種々の DNA 損傷に対する影響を検討し、休眠期のゲノム維持機構を検討する。

#### 発表論文

該当なし

#### 福1-22

#### 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し、低線量（率）放射線による生物影響の分子機構を解明し、前述の目的を達成するものである。

共同研究 2 年目である今年度は、低線量率放射線照射による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）の細胞内動態とともに、細胞の生存への影響を観察した。照射対象はマウス胚線維芽細胞（mouse embryonic fibroblast: MEF）で、酸化塩基損傷を除去修復する DNA グリコシラーゼ 2 種、NTH1 および OGG1 の二重欠損株ならびにその野生株を用いた。低線量率照射実験は広島大学原爆放射線医科学研究所設置の低線量率ガンマ線照射装置を用いて、線量率 1 Gy/day の照射を最大 2 日間行い、照射中適宜サンプリングし、アガロースゲル電気泳動法によるクラスター DNA 損傷分析とコロニー形成法による生存率分析を行った。DNA 損傷分析の結果、酸化塩基損傷クラスターの生成収率が高く、DNA 二本鎖切断の 5 - 10 倍であった。損傷の生成収率は野生株と欠損株で差はなかった。一方、生存率分析の結果は、低線量率ガンマ線照射中に両株とも増殖を示すが、欠損株の増殖率は野生株に比べ大きく低下した。以上の結果は、低線量率放射線の生物効果において、生成する DNA 損傷、特に酸化塩基損傷クラスターが重要なファクターであることを示唆している。

今後は、現在進行中の損傷分析を完了するとともに、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: (2017) Effects of irradiation on bone invasion of breast cancer cells. J Thai Assoc Radiat Oncol, 23(2): 23-33

#### 福1-23

#### 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)

河村 香寿美

(京都大学放射線生物研究センター：大学院生)

Qi Fei

(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：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 は即座に検知され、適切な細胞応答が活性化される。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いが、これまでの研究からヒト正常繊維芽細胞で低線量率放射線照射時に ROS 蓄積が照射終了後も持続することを明らかにしていたことから、ROS 蓄積のメカニズムおよび細胞影響を明らかにすることを目的として研究を行った。

細胞内ではミトコンドリアが最大の ROS 産生源のため、MitoSOX 染色でミトコンドリア由来 ROS 産生を検討すると、低線量率照射時のみミトコンドリア由来 ROS 蓄積があり、その時ミトコンドリア膜電位の低下が見られ、ミトコンドリアの機能破綻が ROS 蓄積の原因だと考えられた。また、このような ROS 蓄積による細胞応答をウエスタンブロット法で検討し、低線量率照射時のみ、p38MAPK, AMPK などの酸化ストレス応答タンパク質のリン酸化が誘導された。これらの結果から低線量率照射はミトコンドリア由来 ROS 蓄積を通して酸化ストレス応答を活性化することが考えられ、低線量率放射線細胞影響との関係を今後詳細に解析する予定である。

#### 発表論文

Kawamura K, Qi F, Kobayashi J. Potential relationship

between the biological effects of low-dose irradiation and mitochondrial ROS production. *J Radiat Res*, in press.

### 福1-24

## 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 真

(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」と平成 23 年度～平成 27 年度の「健康診査」を結合し、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縦断的に評価する計画とした。今年度はデータの切り出しに時間を要し、データベースを整備するにとどまった。

昨年度までの横断分析の結果では、運動頻度が低いほど肥満・過体重の割合が大きく ( $P<0.01$ 、 $\chi^2$  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 ( $P<0.01$ 、 $\chi^2$  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。今後、整備したデータベースをもとに、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



## 福1-25

### 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

(理化学研究所伊藤ナノ医工学研究室：特別嘱託職員)

共同研究者：緒方 裕光

(女子栄養大学大学院栄養学研究科：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：特任教授)

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量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 29 年度は、細胞抽出液アレイを作製する装置の改良、特異的抗体を用いた定量法の開発、データ解析法の実行を行った。開発中のスタンプ型アレイ作製機は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スポットできる。スポットの形状、サイズをできるだけ均一にするため、スタンプ部の改良を行ってスポットピンとメンブレン間の接触を精密に制御できるようにした。さらに、ピンの撥水コート、研磨を行い、スタンプ性能の維持をはかった。放射線の影響を反映する可能性がある新たな測定対象を選定するため、特異的抗体を新たに入手し、アレイ染色に適用可能かどうかの確認を行っている。また、タンパク質の測定データに含まれる可能性がある外れ値をソフトウェア上で自動的に検出、除去できるようにした。

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。精密なタンパク質量測定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1-26

### *Apc*<sup>Min/+</sup> マウスを用いた放射線誘発腫瘍の分子機構解明。

#### 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:

*Apc*<sup>Min/+</sup> 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*<sup>Min/+</sup> mice. To explore whether chromosomal divergence affects the rate of mitotic recombination-mediated LOH, spontaneous and radiation induced tumor multiplicity, we used F1 hybrids *Apc*<sup>Min/+</sup> mice between B6 and B6-chr18<sup>MSM</sup>. In our study, we test RNA samples of five groups from intestinal adenoma (A: B6/B6-F1, 0Gy, S-type; B: B6/B6-F1, 0Gy, Unidentified; C: B6/B6-Ch18<sup>MSM</sup>-F1, 0 Gy, S-type; D: B6/B6-Ch18<sup>MSM</sup>-F1, 2.0 Gy, S-type; E: B6/B6-Ch18<sup>MSM</sup>-F1, 2.0 Gy, R-type) by using the next generation sequencing of the illumina HiSeq 2500 to get data of mRNA expression level. Among these mRNAs, we find that there are many mRNAs up- and down-regulated, for example, 214 and 617 mRNAs were up- and down-regulated in Group C compared with Group A respectively. Heat map indicated cluster analysis of different-expressed mRNAs. In the GO analysis, the DEGs are annotated to divide into three categories: biological process, cellular component, and molecular function. Between A and C groups, the three terms most associated with biological process were cellular process (574), metabolic process (466), single-organism process (581). The KEGG pathway enrichment analysis reveals the way in which DEGs would interact with other factors and how they participate in the various biological functions. There is spontaneous and radiation effect in

B6/B6-F1 *Apc*<sup>Min/+</sup> mice and B6/B6-Ch18<sup>MSM</sup>-F1 *Apc*<sup>Min/+</sup> mice on mRNA gene expression of adenoma samples. 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 some special gene to analyze the relationship of LOH and chromosomal recombination following low dose and low dose-rate radiation exposure.

### 福1-27

## *Effects of radiation on cardiac stem cells and cardiac repair*

### 研究組織

共同研究代表者：Ke Cheng

(Associate Professor : NC State 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

The goal of this research is to examine the effects of low-dose radiation on cardiac stem cells and cardiac repair. We have derived cardiac stem cells from human cardiac tissues. Flow cytometry analysis was used to check the phenotype identities of the cells. With the help from Professor Taosheng Li we also established rodent model of myocardial infarction in the lab. This year we had a joint publication in Nature Biomedical Engineering.

### 発表論文

Tang J, Su T, Huang K, Dinh PU, Wang Z, Vandergriff AC, Hensley MT, Cores J, Allen T, Li TS, Sproul E, Mihalko E, Lobo LJ, Ruterbories L, Lynch A, Brown AC, Caranasos TG, Shen D, Stouffer GA, Gu Z, Zhang J, Cheng K. Targeted repair of heart injury by stem cells fused with platelet nanovesicles. *Nature Biomedical Engineering*. 2, 17-26, 2018.

## 福1-28

### 低線量率放射線に対する細胞応答と放射線適応応答との関連の検討

#### 研究組織

共同研究代表者：立花 章

(茨城大学理学部：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

申請者は、これまでに1 mGy/minの線量率で $\gamma$ 線照射すると放射線適応応答が誘導されることを明らかにしてきた。さらに、低線量率 $\gamma$ 線を照射した細胞では、protein kinase Caおよびp38 MAPK $\alpha$ のリン酸化レベルが上昇することから、これらの細胞内シグナル伝達経路の活性化が放射線適応応答に関与するものと考えられる。本共同研究では、上記以外のタンパク質について、低線量率放射線照射後の動態を解析することにより、放射線適応応答に関与するシグナル伝達経路を明らかにすることを目的としている。

本年度は、まず広島大学原爆放射線医科学研究所を訪問し、細胞への照射装置を見学して低線量率ガンマ線照射の方法を検討し、実験の実施に関する打合せを行った。また、細胞内のシグナル伝達経路に関与する分子として上皮増殖因子受容体に着目することとし、その細胞内局在を解析するための条件検討を行った。これらの条件検討を基に、低線量率照射された細胞内での上皮増殖因子受容体タンパク質の挙動を今後解析する予定である。

#### 発表論文

Nakayama, T., Sawai, T., Masuda, I., Kaneko, S., Yamauchi, K., Blyth, B.J., Shimada, Y., Tachibana, A., Kakinuma, S. Tissue-specific and time-dependent clonal expansion of ENU-induced mutant cells in *gpt* delta mice. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 58 (8), 592–606, (2017)

Ariyoshi K, Fujishima Y, Miura T, Shang Y, Kakinuma S, Shimada Y, Kasai K, Nakata A, Tachibana A, Yoshida MA. Rapid isolation of murine primary hepatocytes for chromosomal analysis. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Animal*, 53 (5), 474-478 (2017)

## 福1-29

### Assessment of the health risks of internal exposure from low dose $^{137}\text{Cs}$ around Chernobyl

#### Research Organization:

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

Joint Researchers: Sergiy Chorniy (President: Zhitomir Inter-Area Medical Diagnostic Center in Korosten)

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

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

#### Contents, Results, and Prospects of Study

In spite of the fact that the level of  $^{137}\text{Cs}$  concentration is very low,  $^{137}\text{Cs}$  has been still detected in residents around the Chernobyl Nuclear Power Plant (CNPP). Although the health risks of internal exposure from  $^{137}\text{Cs}$  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  $^{137}\text{Cs}$  in inhabitants around the CNPP.

1,303 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 gender, age, height, weight, address, medication, status of food intake and the date of examination. We analyzed the correlation between internal exposure of  $^{137}\text{Cs}$  and following items (residential area “zone”, gender, age, wild food intake, and upper gastrointestinal endoscopic findings of participants).

Of the 1,303 participants, 63.3% were women and mean age is 49 years (range from 15 years to 94 years). Among the 1,303 habitants, internal exposure dose with  $^{137}\text{Cs}$  was detected in 171 participants (13.1%). The mean level

of  $^{137}\text{Cs}$  was 1,631Bq/body (range from 786 to 3,995 Bq/body).

Factors significantly related to endoscopic findings were gender (male), age (elder). No significant correlation between endoscopic findings and internal exposure dose was observed. Internal exposure dose correlated with residential area (close to contaminated area), gender (male), wild dietary intake.

Because many participants complained of gastrointestinal symptoms, and we found endoscopic findings in most of them, we plan to reexamine it by increasing the number of people, and perform detailed verification.

### 福1-30

### 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。昨年度は、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ために消化管幹細胞を EdU 標識により識別する実験を進め、本年度は、EdU 陽性細胞が細胞周期を回ったことを評価する目的で、リン酸化ヒストン H3 (PH3) の抗体染色の条件検討を進めた。抗体の種類(認識抗原が Ser10 か Ser28)の違いによって、得られる細胞周期の染色像が異なると考えられたことから、PH3 の染色パターンに違いが認められるかを検討した。消化管幹細胞 (Lgr5<sup>+</sup>) で EGFP を発現するマウスに EdU を投与し、3 時間後に解剖してクリプトの細胞懸濁液を調製した。Click-iT EdU PLUS Flow Cytometry Kit を用いて、EdU 陽性細胞を染色し、さらに複数の抗 PH3 抗体 (Ser10 および Ser28) を免疫染色して、フローサイトメーターによって細胞毎の蛍光分布を得た。その結果、EdU 陽性の Ser10 抗体 (2 種類) で染色された細胞は、消化管幹細胞のうち、0.55, 0.72% であったのに対し、Ser28 抗体で染色された細胞は、1.67% と高い割合を示した。用いる抗体によって染色割合が異なることを踏まえ、今後は細胞分裂と DNA 損傷保持細胞の動態の解明を進める予定である。

#### 発表論文

なし

福1-31

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

(朝日大学歯学部口腔生化学分野：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

低線量の放射線被ばくが悪性腫瘍に対する免疫応答に及ぼす影響は十分に解明されていない。本研究では、同系マウス (BALB/c) に大腸癌由来細胞株である CT26 を皮下接種と経静脈的接種の2種類の方法で投与を行い、以下の2つの検討を行った。

(1) 2群間における免疫系動態の比較。

(2) CT26 接種前に低線量・低線量率放射線による全身被ばくを行った際に生じる抗腫瘍免疫応答の2群間における比較。

(1) の検討の結果、皮下接種モデルにおいては経静脈的接種モデルと比較し、脾内の骨髄由来免疫抑制細胞 (myeloid-derived suppressor cells, MDSC) の比率が増加していた。また、同様に皮下接種モデルでは、CD4+T 細胞と CD8+T 細胞の減少が認められた。さらに興味深いことに、皮下接種モデルにおいてのみ、IL-4, IL-9, IL-10 の産生が有意に低下しており、Th1/Th2 バランスの Th1 方向への偏移が見られることが確認された (Masuda J, Oncol Rep 2017)。現在、(2) の条件下において、同様の検討を継続している。

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1-32

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：特任教授)

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、20 mGy/22時間/日の低線量率 $\gamma$ 線の400日間連続照射と、400 mGy/22時間/日の中線量率 $\gamma$ 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の次世代シーケンサーを用いた解析により、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する。昨年度は両者の白血病マウス(各4匹)の比較を実施し、全てに共通遺伝子変異はないが、変異遺伝子はそれぞれの照射群に特異的な性質の要因となっている可能性を示した。これに対して、今年度は両者に共通の特性を解析した。両者の全73変異遺伝子をIngenuity Pathway Analysis<sup>®</sup>を用いて、Canonical Pathway、生物学的プロセス、細胞内機能、疾病の4つのカテゴリーに分けてannotationを行った。既知の細胞内生体反応経路であるCanonical Pathwayにおいて、特定の経路に変異遺伝子が集中していることはなかったが、生物学的プロセスではsignal transduction、transport、G-protein coupled receptor signaling pathwayにそれぞれ11、8、6の変異遺伝子が含まれ、同様に細胞内機能ではproliferation、apoptosis、survivalに13、12、11の変異遺伝子、疾病ではepithelial cancer、adenocarcinoma、melanoma cancer、carcinoma、endometrioid cancer、endometrioid carcinoma、melanomaに49、33、32、28、20、20、18の変異遺伝子が含まれていた。これらの成果から低・中線量率放射線誘発白血病に生じている変異遺伝子はがんに関連しており、増殖、細胞死、生存を変化させているが、造血細胞をがん細胞化させている過程は多様であることが推察される。

今後は、変異遺伝子が造血細胞を正常な状態から白血病幹細胞化させる過程を詳細に解析することが重要であると思われる。

発表論文

なし(論文作成中)。



### 福1-33

#### 低線量率放射線長期連続照射マウスの胎仔・成体組織幹細胞でのゲノム不安定性誘導に関する研究

##### 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マウス初期胚を調製して、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。

C57BL/6 メスマウスに過排卵処理を行い、C3H オスマウスの精子と培地内で混合することで受精を行った。この受精卵の 2 細胞期、4 細胞期、8 細胞期にそれぞれ 3 Gy の  $\gamma$  線を照射した。照射後に 24 ～ 48 時間後に胚をホルマリンで固定した後、透明帯を酢酸タイロードで除去した。抗 53BP1 抗体や抗  $\gamma$ H2AX 抗体を用いて DNA 二本鎖切断を解析した。その結果、発生時期と照射後により DNA 損傷の発生が異なることがわかった。しかしながら抗体により損傷の検出が困難出あることが分かったため、さらに染色条件の最適化を行うこととする。今後は TUNEL 法によるアポトーシスなどを同時に検出することで、初期胚の DNA 損傷とアポトーシスの挙動や、初期胚の放射線照射による胎児における影響を解析する。

##### 発表論文

なし

### 福1-34

#### 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 顎・口腔外科：教授)

共同研究者：中峠 洋隆

(広島大学 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 顎・口腔外科：歯科診療医)

山崎 佐知子

(広島大学 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。各種細胞株を無血清培地 DF6F で単層培養し、高線量率ガンマ線照射装置 (Gamma cell 40 Exactor, Best Theratronics) 及び低線量率照射装置 RM1000 (中外テクノス) を用いてそれぞれ 5Gy/5.75min (2 回 / 週) 及び 2.2Gy/day (4 日 / 週) 照射し合計 60Gy 照射された放射線耐性細胞群 (RR-HDR, RR-LDR) の特性解析を行ったところ、癌幹細胞マーカー CD133 陽性細胞の割合、sphere 形成能および未分化マーカー *nanog* の遺伝子発現が RR-A431-LDR において上昇していた。DNA マイクロアレイにて発現変動遺伝子を網羅的に解析した結果、対照細胞と比較していずれの耐性細胞群においても *KRT13*、*IGF2*、*SERPINB2* が上昇しており、その内 *KRT13* が 200 倍発現上昇していた RR-A431-HDR、RR-A431-LDR に対し siRNA を用いて *KRT13* をノックダウンしたところ、放射線耐性能が低下することが示された。また、いずれの耐性細胞株においても、ヌードマウスを用いた腫瘍形成試験において、対照細胞と比較して少ない細胞数で腫瘍を形



成することが明らかとなった。以上の結果から無血清培地 DF6F を用いて高線量ガンマ線照射及び低線量率 RM1000 で 60Gy 照射された耐性細胞群はがん幹細胞様の性質と分化多能性を持ち併せている可能性が示唆された。本結果は、口腔がんの放射線耐性機構の解明、さらには、より効果的な放射線治療法の開発に貢献するものと期待される。

#### 発表論文

未発表

#### 福1-35

#### 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 顎・口腔外科：教授)

共同研究者：中峠 洋隆

(広島大学 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 顎・口腔外科：歯科診療医)

山崎 佐知子

(広島大学 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、昨年度、患者より採取した末梢血より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 Gamma-cell system もしくは RM1000 にて 0.1 ～ 2.2Gy で照射後、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。昨年度の結果では、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ため、本年度は 0.1Gy 以下での影響を明らかにするべく実験を行った。Gamma-cell system を用いて 0.027 (164mGy/min), 0.054 (164mGy/min), 0.11 (164mGy/min), 0.27 (164mGy/min), 0.49 (351mGy/min), 0.99 (351mGy/min) Gy もしくは RM1000 を用いて 0.009 (0.0063mGy/min), 0.077 (0.054mGy/min), 0.12 (0.084mGy/min), 0.25 (0.24mGy/min), 0.50 (0.35mGy/min), 1.1 (0.76mGy/min) Gy 照射し iPS 細胞の誘導を行ったところ、Gamma-cell system で 0.027Gy 照射した末梢血単核球において、最も誘導効率が高いことが示された。末梢血リンパ球への低線量放射線照射は iPS 細胞の誘導に影響を及ぼすことが考えられた。

#### 発表論文

未発表

### 福1-36

#### 低線量放射線のストレス・睡眠・生活習慣病・循環器疾患の発症との関連

##### 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)

共同研究者：手塚 一秀

(大阪がん循環器病予防センター：医員)

本田 瑛子

(大阪がん循環器病予防センター：保健技師)

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：坂井 晃

(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

福島県「県民健康調査」、においては、震災後の避難区域住民を対象として「こころの健康・生活習慣に関する調査」を実施している。本研究では、震災後のストレス、睡眠、生活習慣の状況がその後の循環器疾患発症とどのように関連するかについて検討を行うために、今年度は、これまでの福島県「県民健康調査」について文献的なレビューを行った。その結果、特に放射線被ばくが高いと考えられる地域ほど、こころの健康度が悪いものが多く、また、避難することが、こころの健康度の悪化、及び睡眠の質の低下、喫煙開始の増加、飲酒に問題を抱える者の増加等、生活習慣の悪化に関連していた。さらに、健診成績の推移については、避難することが、震災後の新規の肥満、高血圧、脂質異常、糖異常、肝機能異常の出現リスクを高くすることが明らかになった。したがって、低線量放射線そのものの影響よりも、避難に伴う、精神的ストレスの悪化、生活習慣の変化、及び循環器疾患リスクの増加が将来の循環器疾患発症のリスクを高める可能性が考えられた。今後は、実際に避難していることが循環器疾患の発症と関連するかどうかについての解析を実施する予定である。

##### 発表論文

なし

### 福1-37

#### *The role of long non-coding RNAs (lncRNAs) in radiation-induced DNA damage response of cardiac stem cells.*

##### Research Organization

Representative Joint Researcher: Gangjian Qin (Professor: The University of Alabama at Birmingham Department of Biomedical Engineering)

Representative Resident Researcher: Tao-Sheng Li (Professor: Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University)

##### Contents, Results and Prospects of Study:

In the screening for radiation-induced alterations in the unannotated transcriptome of Lin<sup>+</sup>cKit<sup>+</sup> (CLK) cardiac stem cells (CSC), we identified lncRNA MIAT (myocardial infarction associated transcript) that was dramatically upregulated by the treatment. We further confirmed the observation by qRT-PCR and in situ hybridization. To validate the significance of MIAT expression in the oxidative stress-induced injury in vivo, we created a surgical ischemic reperfusion model in mice, and intramyocardially transplanted CSC with either MIAT knockdown or overexpression. Knockdown of MIAT renders CSC more sensitive to apoptosis, while overexpression of MIAT confers protection. Since DNA damage response (DDR) is a hallmark of both radiation and oxidative stress, we further analyzed signature proteins in DDR pathway. Interestingly, we found that oxidative stress significantly altered the activation states of initiation and inducing DDR kinases, especially Chk2. Further studies are underway with RNA co-immunoprecipitation technique to identify potential MIAT-interacting proteins that collaborate with MIAT in the protection of CSC from radiation and oxidation induced cell death.

## 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)

共同研究者：七種 和美

(広島大学理学研究科：助教)

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

まず、尿中に排出される鉄量の変化に注目し、マウスを用いて4 Gy 被曝前後の尿中鉄量の変化を黒鉛炉原子吸光光度法を用いて観察した。測定結果から、被曝後24時間から72時間において尿中鉄量が増加すること、特に24時間後から48時間後にかけて被曝前と比較して約2倍に増加することが明らかとなった。

次いで、被曝後のマウス肝臓から蛋白質を抽出し質量分析を行ったところ、被曝後のマウス肝臓中から嫌気性解糖系に関わる酵素 Triokinase が検出された。このことから、被曝後に生体内で低酸素ストレスが進行していることが示唆された。そこで代表的な低酸素応答因子であり、低線量放射線被曝で活性化する HIF-1 の変化をウェスタンブロッティングを用いて観察した。その結果、被曝直後に減少した HIF-1 $\alpha$  の発現量が徐々に回復し、さらに24時間後から72時間後にかけてその量が増加することが明らかとなった。HIF-1 $\alpha$  は赤血球の生産を亢進することから、放射線被曝は鉄代謝に影響していることが示唆される。さらに、尿中にその一端が現れることから、より簡便な放射線被曝の新規バイオマーカーとしての可能性が示唆された。

#### 発表論文

Iizuka D, Yoshioka S, Kawai H, Izumi S, Suzuki F, Kamiya K. Metabolomic screening using ESI-FT MS identifies potential radiation-responsive molecules in mouse urine. Journal of radiation research, 58, 273-280(2017).

## 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)

新田 彩香

(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

高用量放射線の生体への影響としては、皮膚、粘膜、造血組織への急性障害があり、特に高線量の被ばく後の死因は造血系や腸の損傷によるところが大きい。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は腸死を引き起こす。現在、IEC-6 (ラット腸管上皮細胞) を用い、ガンマセル ( $^{137}\text{Cs}$ ) による照射に対して細胞死を抑制する化合物の探索を行っている。単回5 Gy 照射により30-40% 程度の細胞死がみられるのに対し、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結果、狗脊、防己、白果仁などの生薬に細胞傷害を回避する活性が見いだされた (Fig. 1)。シダ属タカワラビ (*Cibotium barometz*) の根茎を輪切りにした中国生薬である狗脊は、古くは神農本草経や名医別録に記載されている生薬であるが、放射線障害軽減作用などの報告は無い。昨年度に引き続き、カラムクロマトグラフィーにより、狗脊の活性成分の分離精製を試み、新たに原料を抽出し、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を確認、

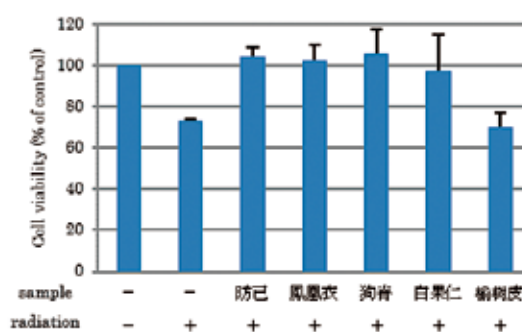


Figure. 1 生薬由来サンプル (EtOAc 層) のスクリーニング結果

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、最後に HPLC による成分の生成を行った。その結果、dimethyl azelate、 $\beta$ -sitosterol、linoleic acidなどを単離した。化学構造は NMR、MS などのスペクトルデータにより明らかにしている。今後はこれらの成分の活性について検討するとともに、そのほかに見出した防已、白果仁などについてさらに検討を加える予定である。

#### 発表論文

なし

### 福3-2

#### 天然由来成分 Piceatannol の放射線防護作用検討

##### 研究組織

共同研究代表者：中村 麻子

(茨城大学理学部：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

現代社会において放射線被ばくは、宇宙放射線や予期せぬ放射線事故など様々な場面で起こる可能性があり、放射線リスク評価およびそのリスク低減化が求められている。

我々の研究室ではこれまでに急性高線量放射線照射に対して、発がん抑制および生存率上昇効果を示す抗酸化剤の一つである Tempol に着目し、その慢性被ばくおよび低線量放射線に対する放射線防護作用を検討してきた。その結果、ガンマ線に対する放射線防護作用が細胞レベルだけではなくマウス個体レベルでも確認された。しかしながら、Tempol をはじめ防護剤の多くは人工化合物であり、長期投与による毒性影響が不安視されていた。そこで、本研究では Tempol より抗酸化力が強い天然由来成分でもあるレスベラトロール類似体である Piceatannol についてその放射線防護作用について検討を行った。具体的には、ヒト初代培養細胞 TIG-3 に Piceatannol を 1.25  $\mu$ M 添加し、一週間の培養を行った後に X 線を照射した。照射後、経時的（1, 2, 4, 8, 12 時間）に細胞を固定し、 $\gamma$ -H2AX 抗体を用いた蛍光免疫染色法による解析を行った。その結果、piceatannol を添加した細胞では、照射後 4 時間までのサンプルにおいて有意差をもって DNA 損傷レベルの減少が認められた。さらに、X 線照射 1 時間後に Piceatannol を添加し、DNA 損傷レベルの変化について検討したところ、興味深いことに Piceatannol 添加細胞では、 $\gamma$ -H2AX レベルが非添加細胞と比較してより迅速に減少している傾向が認められた。このことは、Piceatannol が DNA 損傷修復活性を亢進する作用を有していることを示唆している。

Piceatannol はパッションフルーツなどの果実に含まれる天然由来成分であることから、今後、その放射線防護作用が確認されることで、より安全に長期的摂取可能な放射線防護剤の同定につながると期待される。

##### 発表論文

なし

## 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)

共同研究者：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：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やす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。昨年度は、低線量率放射線照射下で4週間飼育したマウスを用いた解析を行い、未分化造血細胞(c-Kit<sup>+</sup>、Sca-1<sup>+</sup>、Lineage<sup>-</sup>)が相同末端結合修復機構を介してゲノム修復を行なっていることを明らかにした。しかし、相同末端結合修復の頻度は非常に低く、低線量率放射線被ばくによってゲノムに傷害が蓄積されていることが考えられた。本年度は、低線量率放射線被ばくでのゲノム傷害の原因となる活性酸素種を造血細胞で検出できる実験系の樹立を行なった。さらに、ゲノムの傷害の蓄積を解析するために、未分化造血細胞を用いたコメットテイル法を確立した。

今後は、これらの実験系を用いて、低線量率放射線被ばくによるゲノム傷害の作用機序について解析を進め、低線量率放射線に対する未分化造血細胞の新たな防護法の開発を目指す。

## 発表論文

Ohno Y, Suzuki-Takedachi K, Shirasu N, Yasunaga S, Takihara Y, Tissue reaction in the bone marrow. *Radiat Biol Res Commun.*, 52(4) 336-349, 2017.



## 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

共同研究代表者：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2年)

山川 知晃

(徳島大学大学院・保健科学教育部：博士前期課程1年)

川手 耀介

(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)

柳川 千裕

(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)

越智 進太郎

(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)

甲斐 泰郎

(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)

受入研究代表者：稲葉 俊哉

(がん分子病態研究分野：教授)

## 研究内容・研究成果・今後の展望等

放射線防護剤の研究開発は、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極めて重要である。また、放射線治療では、正常組織障害が投与線量の限界（耐容線量）を決めており、正常組織の耐容線量を高める放射線防護剤の開発が望まれている。放射線防護効果が得られる標的分子として、p53は特に重要な分子の一つである。研究代表者らは、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依存性細胞死を制御するいくつかの新規放射線防護剤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、マウス前脚部の骨髓を鉛で遮蔽防護することによって骨髓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。本年度は、最大耐用量試験(maximum tolerated dose study)を実施し、マウス投与実験にて80 mg/kgまで安全であることを確認した。また、マウス腸上皮を剥離、可溶化したサンプルの解析より、5CHQによるアゴニスト活性として投与25時間後もp53の蓄積が持続していることも明らかとなった。さらに、p53ノックアウトマウスを用い、5CHQ防護効果のp53特異性も明らかにした。

## 発表論文

A. Morita, *et al.*, A chemical modulator of p53 transactivation that acts as a radioprotective agonist. *Mol. Cancer Ther.* 17, 432-442, 2018.

### 福3-5

#### 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

(仙台市医療センター 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

研究内容：アミノ酸混合物のシスチン・テアニン（CT）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。これまでにCT前投与により、2 GyX線全身照射後の空腸、大腸の陰窩細胞の放射線誘発アポトーシスの抑制、分裂像数（マイトーシス数）と増殖細胞数（Ki67陽性細胞数）の増加が起きること、5 Gy照射後の生存率の低下と体重減少が抑制されることが明らかになった。CT前投与の生存率の改善効果がどのような機序によるものか明らかにするため、CT投与後5 Gy照射後3日、7日の骨髄と腸管の組織学的変化を調べた。また末梢血の血液成分の変化について調べた。

研究成果：コントロール群、CT投与群共に5 Gy照射後3日で急激に造血細胞数と白血球数が減少し、7日目で血小板数が低下するが、CT投与群では照射後7日の造血細胞数と白血球数がコントロール群に対し有意に高値だった。小腸、大腸陰窩細胞のTUNEL陽性細胞は、照射後3日、7日目で非照射に比べ高い値を示し、CT投与群でコントロール群に対し有意に抑制されていた。大腸陰窩では照射後3日目でCT投与群はコントロール群に比しマイトーシス数が高値で、非照射と7日目でKi67陽性細胞数が高値だった。小腸陰窩では両群間でマイトーシス数の違いは見られないが、Ki67陽性細胞数はCT投与群でコントロール群に対し、非照射、3日、7日目で高値だった。

今後の展望：今後は、5 Gy照射後いくつかのタイムポイ

ントで追加実験を行い、論文を作成する予定である。また腸管死が起きる10Gy以上の照射後、シスチン・テアニン前投与が生存率に影響を及ぼすかどうか検討する。

##### 発表論文

今年度は国内学会二つと国際シンポジウムでポスター発表を行った。

これまでの結果を踏まえて今後論文を作成する予定である。



#### 福4-1

### 福島原発事故後の自主参加型の内部被ばく検査結果の代表性に関する分析

#### 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：院長)

金澤 幸夫

(南相馬市立総合病院消化器内科：元院長)

森田 知宏

(相馬中央病院内科：内科医師)

小野 恭子

(産業技術総合研究所安全科学研究部門：主任研究員)

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、これまでに、原発 10-40km 圏に位置する福島県南相馬市における内部被ばく検診への参加の要因を調べ、またその結果（セシウム 137 及び 134）の地域代表性（検査参加者の結果が地域全体を偏りなく反映できているか）を評価する方法論を構築してきた（成果は査読付き国際誌に発表済み）。これらの結果を踏まえて、災害分野における疫学研究のあり方、特に被災者の状況を鑑み、検診への自主的な参加を前提とした研究デザインの設定を推奨する方法論の重要性を提案した。とくに、検診へのアクセスやリスク認知などを加味して、全体を推定する研究デザインのあり方を論じた。この提案についてはコメンタリーとして査読付き国際誌に発表した。

#### 発表論文

Nomura S, Tsubokura M, Murakami M, Ono K, Nishikawa Y, Oikawa T. Towards a Long-Term Strategy for Voluntary-Based Internal Radiation Contamination

Monitoring: Representativeness of the Monitoring Results in Fukushima, Japan. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. Online First: 20 June 2017. doi: 10.3390/ijerph14060656.

Murakami M, Nomura S, Tsubokura M. Call for a new epidemiologic approach to disaster response. *Journal of Epidemiology and Community Health*. Online First: 19 January 2018. doi: 10.1136/jech-2017-210397.

## 福4-2

## 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学部：教授)

共同研究者：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 29 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、2017 年 6 月 4 日に広島国際会議場にて開催された第 58 回原子爆弾後障害研究会、2017 年 7 月 9-13 日に ACT City, Hamamatsu にて開催された第 2 回 International Conference on Big Data, Cloud Computing, and Data Science 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。

今後は、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方法を開発していく。

## 発表論文

富田哲治, 佐藤健一, 和泉志津恵. (2017). 広島・長崎平和宣言における平和観の経時変化の違いについて～単語

出現頻度に基づく考察. 長崎医学雑誌, (特集号):印刷中.

Izumi, S., Tonda, T., Kawano, N., Satoh, K. (2017). Visualize the longitudinal big text data with a binary covariate: an approach based on keyword's frequency. Proceedings of IEEE/ACIT/CSII 2017 International Conference on Big Data, Cloud Computing, and Data Science Engineering (BCD 2017), 284-289.

## 福4-3

## 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：教授)

共同研究者：高嶋 隆太

(東京理科大学 理工学部：准教授)

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)

鈴木 崇彦

(帝京大学 医療技術学部：教授)

伊藤 真理

(東京理科大学 理工学部：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

これまでの研究で、「リスク認知」、「信頼」、「ベネフィット認知」という主に三つの要因が原子力の社会的受容性に関する意思決定に影響を与えることがわかっている。これらの要因のうち「リスク認知」、「信頼」は原子力の社会的受容性に対しマイナスの要因を与えていることもわかっている。しかし「ベネフィット認知」は中庸意見の割合が多く、この三つの要因の中では唯一原子力の社会的受容性にプラスに寄与している可能性が示唆された。本研究では、福島第一原子力発電所事故前後の日経新聞の新聞記事および世論調査の自由記述にテキストマイニングの手法を用いることで、原子力の情報の発信側の傾向と、受け手側への影響を分析した。経済関連の記事がベネフィット認知に直接かわっていると仮定し、ここでは日本経済新聞を情報発信メディアの例として採用した。

本研究では東京電力・福島第一原子力発電所事故前後の報道傾向を調査するために、日経新聞電子版の2010年9月10日から2011年9月11日を期間対象とし、記事内容に「原子力」を含むものを分析対象とした。関連の記事数に関して、事故前半年間は772件、事故後半年間は9,944と約10倍近い差が確認できた。一方、日本原子力文化財団が関連の世論調査 ([http://www.jaero.or.jp/data/01jigyoyou/tyousakenkyu\\_top.html](http://www.jaero.or.jp/data/01jigyoyou/tyousakenkyu_top.html)) を実施しており、

全国15歳から79歳までの男女を対象とした個別訪問を行い、住宅地図データベースから世帯を抽出している。地域、市郡規模別の各層に比例配分した結果（毎年男女1,200件のランダムサンプリングデータ）が利用できる状況にある。2008年から2012年の選択式アンケート「あなたは、ふだん原子力やエネルギーに関する情報を何によって得ていますか。」という問に新聞と回答した方（2008年は332件、2010年は110件、2011年は157件、2012年は153件）の意見を参照した。事故前後1年間分の新聞記事をテキストマイニングし、得られた結果を共起ネットワークとして整理し、またクラスター分析をかけた。同様に、新聞を主な情報源とする回答者の意見についても同様な分析をかけた。

これらの分析から、日経新聞の例では、事故前の記事は原発・原子力などの原子力発電のあり方（リスク認知）に報道内容が多く、事故後は原発・安全・汚染など原子力発電のあり方に加え、政府や東電の対応（信頼）が目立っていた。共起ネットワークを俯瞰すると、事故前は国際関係の語が多くあげられているのに対し、事故後は事故に直接的に関連する記事が多く書かれている。本研究の調査対象時期が、リスク認知に関する情報源としての役割が、ベネフィット認知に関する情報源としての役割を上まわった時期であったと結論できる。

また、事故前の日経新聞と世論調査の共起ネットワークと比べると、いずれも原子力発電のあり方に関連する語の中心性が高かった。しかし日経新聞における頻出語の半数が国際関係の語であるのに対し、世論調査では国際関係の語は確認できなかった。

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4-4

## 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

(大阪国際がんセンターがん対策センター：副部長)

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

(福島県立医科大学医学部疫学講座：教授)

受入研究者：高橋秀人

(国立保健医療科学院：統括研究官)

## 研究内容・研究成果・今後の展望等

東日本大震災のように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と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 を使用して、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を詳細に検討した。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。またデータ取得の申請準備を行った。

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）を得て、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4-5

### 環境放射線管理のための e-ラーニング教育プログラムの研究開発

#### 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：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

本研究の目的は国際原子力機関（IAEA）が開発した e-ラーニングシステムをベースにして、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し、効果的な放射性廃棄物管理と環境修復を学ぶ教育方法を開発提案し実践することである。平成 29 年 10 月より 12 月にかけて岡山大学が招聘した IAEA の専門家の協力のもとに、広島大学と共同して、放射線の基礎（歴史、利用を含む）についての英語による e-ラーニングのシナリオ（レクチャー）を作成した。

今後は広島大学の強みである被曝医療も加え、人体への影響、安全取扱等の新たなレクチャーを作成し追加していく。これらは公開 e-ラーニングシステムである Moodle でプラットフォームを構築し、順次実践する。さらに英語コースをベースにした日本語によるコースも作成する予定である。

#### 発表論文

小野俊朗（編）よくわかる放射線・アイソトープの安全取扱い 現場必備！教育訓練テキスト，日本アイソトープ協会放射線安全取扱部会教育訓練テキスト改訂ワーキンググループ，丸善，2018.

#### 福4-6

### 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

平成 28 年度は、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別にリスクミへの参加傾向を調べた。リスクミに参加している人ほど「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ついて、自分自身が積極的に食べないようにしている」を多く選択していることから、放射性物質を含む食物への関心が高い人が情報収集や自らの行為の確認にリスクミを訪れることを示唆した。今年度はクロス集計を用い、他の設問との相関により、「食べない」行為に影響を与えている項目について検討を行った。例えば、リスクミに参加（受けた）し、得られた情報を参考にした人々の「食べない」「気にしない」といった行動への要因の解析である。放射線被ばくへの不安感を感じている人ほど、同じ行動を取っていても「気にしない」より「食べない」割合が高かった。不安感が「食べない」行動に強く影響を与えている可能性が示唆された。引き続き、これらの属性を明らかにし、その態度に至る理由を考察する。これまで、検討してきた成果は、平成 30 年前半には論文化して投稿の予定である。

#### 発表論文

学術雑誌への投稿を準備中である。



## 重1-1

## 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。これまでの共同研究によって、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いる。今後は、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

Adachi, A., S. Senmatsu, R. Asada, T. Abe, C. S. Hoffman, K. Ohta, and K. Hirota. 2017. Jun. Interplay between chromatin modulators and histone acetylation regulates the formation of accessible chromatin in the upstream regulatory region of fission yeast *fbp1*. *Genes Genet Syst*.

Asada, R., M. Umeda, A. Adachi, S. Senmatsu, T. Abe, H. Iwasaki, K. Ohta, C. S. Hoffman, and K. Hirota. 2017. Sep. Recruitment and delivery of the fission yeast Rst2 transcription factor via a local genome structure counteracts repression by Tup1-family corepressors. *Nucleic Acids Res* 45:9361-9371.

Fujisawa, R., E. Ohashi, K. Hirota, and T. Tsurimoto. 2017. May. Human CTF18-RFC clamp-loader complexed with non-synthesising DNA polymerase epsilon efficiently loads the PCNA sliding clamp. *Nucleic Acids Res* 45:4550-4563.

Kawasumi, R., T. Abe, H. Arakawa, M. Garre, K. Hirota, and D. Branzei. 2017. Nov. ESCO1/2's roles in chromosome structure and interphase chromatin

organization. *Genes Dev*.

Tsuda, M., K. Cho, M. Ooka, N. Shimizu, R. Watanabe, A. Yasui, Y. Nakazawa, T. Ogi, H. Harada, K. Agama, J. Nakamura, R. Asada, H. Fujiike, T. Sakuma, T. Yamamoto, J. Murai, M. Hiraoka, K. Koike, Y. Pommier, S. Takeda, and K. Hirota. 2017. Nov. ALC1/CHD1L, a chromatin-remodeling enzyme, is required for efficient base excision repair. *PLoS One* 12:e0188320.

Tsuda, M., K. Terada, M. Ooka, K. Kobayashi, H. Sasanuma, R. Fujisawa, T. Tsurimoto, J. Yamamoto, S. Iwai, K. Kadoda, R. Akagawa, S. N. Huang, Y. Pommier, J. E. Sale, S. Takeda, and K. Hirota. 2017. May. The dominant role of proofreading exonuclease activity of replicative polymerase epsilon in cellular tolerance to cytarabine (Ara-C). *Oncotarget* 8:33457-33474.



## 重1-2

*Establishment of the carbon ion therapy against cancer stem cells of head and neck cancer.*

## Research Organization:

Representative Joint Researcher: Makiko Fujii  
(Professor: Department of Global Dental Medicine & Molecular Oncology, Hiroshima University)

Joint Researcher: Thao Nguyen (Assistant Professor: Department of Global Dental Medicine & Molecular Oncology, Hiroshima University)

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

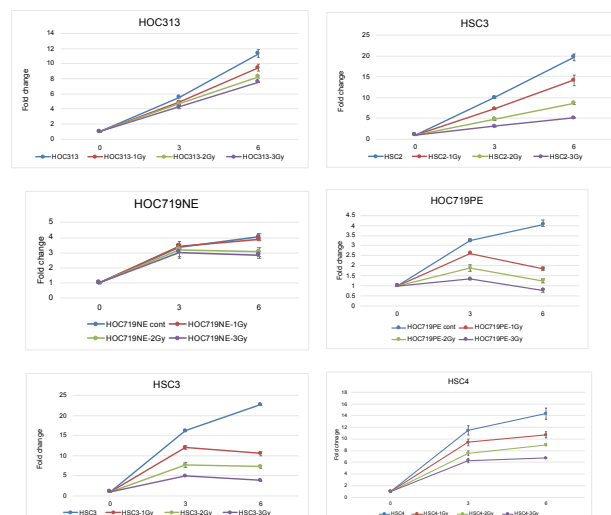
## Contents, Results and Prospects of Study:

## Contents:

Head and neck cancer (HNC) is the most sixth common cancer worldwide, accounts for ~ 4% of all malignancies and 5% mortality of all cancers. Despite progress in current treatments, the prognosis of advanced HNC remains poor. The overall survival rate is less than 50% due to local recurrence and distant metastasis. Recent studies attribute local recurrence and distant metastasis to survival of cancer stem cells (CSCs). CSCs has been defined as a small subpopulation in tumor that can self-renew, drive tumorigenesis and are more resistant to photon radiation and chemotherapy. Carbon ion therapy, an ionizing radiation, has been developed recently, which is expected to be effective for photon-resistant tumors. Therefore, the specific aims of this project are to investigate: A- What make head and neck cancer (HNC) resistant to radiotherapy. B-Whether radio-resistant HNC cells are CSCs. C- Whether carbon ion therapy is able to against CSCs of HNC.

## Results:

### 1. Screening irradiation sensitivity of oral squamous cell carcinoma (OSCC) cell lines and establishing the model to calculate the irradiation sensitivity of OSCC cell lines



Cancer cell growth after radiation was calculated by regression formula:

$$Y = a \cdot X + b \cdot Z + c$$

Y: cancer cell growth      a: coefficient of irradiation dose

X: Dose of irradiation      b: coefficient of time

Z: time of cancer cell growth      c: coefficient of intercept

$$\text{HSC2: } Y = -30741 \cdot X + 26920 \cdot Z + 36454$$

$$\text{HOC313: } Y = -5279 \cdot X + 19749 \cdot Z + 2802$$

$$\text{HSC3: } Y = -30686 \cdot X + 17809 \cdot Z + 56856$$

$$\text{HSC4: } Y = -10205 \cdot X + 12157 \cdot Z + 21306$$

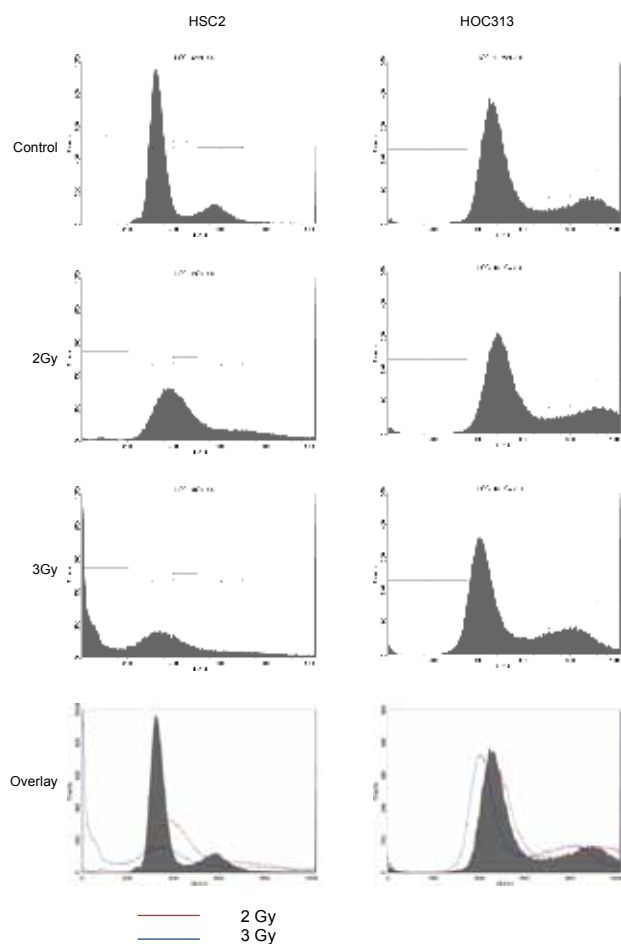
$$\text{HOC719PE: } Y = -8610 \cdot X + 2736 \cdot Z + 31002$$

$$\text{HOC719NE: } Y = -3208 \cdot X + 6972 \cdot Z + 20487$$

In 6 OSCC cell lines, HOC313 and HOC719NE resist irradiation than other cancer cell lines (HSC2, HSC3, HSC4, HOC719PE)

### 2. Examining and comparing the change of cell cycle distributions between radioresistant OSCC cell line (HOC313) and radiosensitive OSCC cell line (HSC2)

|             | Sub G1 | G1    | S     | G2/M  |
|-------------|--------|-------|-------|-------|
| HSC2-cont   | 0.62   | 72.59 | 6.45  | 15.28 |
| HSC2-2Gy    | 2.18   | 33.08 | 23.59 | 15.07 |
| HSC2-3Gy    | 35.30  | 24.94 | 9.83  | 8.43  |
|             | Sub G1 | G1    | S     | G2/M  |
| HOC313-cont | 1.83   | 59.23 | 11.24 | 27.75 |
| HOC313-2Gy  | 3.59   | 57.69 | 12.97 | 25.82 |
| HOC313-3Gy  | 5.24   | 55.17 | 14.25 | 25.45 |



### 3. Establishing radioresistant HOC313 cells and radioresistant HSC2

We finished establishing radioresistant HOC313 cells and radioresistant HSC2 cells by accumulation 60Gy in 30 times of irradiation.

#### Prospects of study:

- Discover the candidate genes, which are responsible for radioresistance and radiosensitive.
- Deeply investigate about mechanisms of radioresistance of OSCC.

## 重1-3

### 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、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する。

本年度は、DNA 損傷応答解析のためのライブイメージングシステムを熊本大学に導入し、部位特異的な DNA 損傷の誘導と細胞応答の解析を実施した。まず 349 nm UV パルスレーザーを倒立型蛍光顕微鏡の光路を通して細胞核の特定部位に照射するためのシステムを設置した。この装置を使って、EGFP タグのついた DNA 修復因子を一過的に発現させた細胞において、EGFP タンパク質の損傷部位への集積経過を観察することができた。また DNA 損傷誘導後、細胞を固定・免疫染色することで、損傷部位における内在性 DNA 修復因子のリン酸化を検出した。さらに、損傷細胞を界面活性剤で処理した後に固定・免疫染色することで、通常では観察が困難な、内在性 Ku タンパク質などの損傷部位への集積が観察可能となった。最後に、生細胞中の核内タンパク質の分子動態を FRAP 法によって解析するための諸条件を決定した。本システムを次年度以降の研究に活用する予定である。

#### 発表論文

## 重1-4

### *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

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：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。今年度も継続して NBS1 機能が体細胞突然変異の誘発にどう関わるのかをテーマに、部位特異的 DSB 導入系を用いて DSB による変異の解析を行った。その結果、NBS1 を中心とする MRN 複合体および ATM によるシグナル制御が DSB 修復の経路選択に寄与していることを裏付けるデータが得られた。現在は、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ための実験系の検討を進めている。

#### 発表論文

Royba, E., Miyamoto, T., Akutsu, S.N., Hosoba, K., Tauch, H., Kudo, Y., Tashiro, S., Yamamoto, T., Matsuura, S. Evaluation of ATM heterozygous mutations underlying individual differences in radiosensitivity using genome editing in human cultured cells. Scientific Reports 7, 5996, 2017.

## 重1-5

### *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)

柿崎 正敏

(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)

山本 雄一朗

(東海大学医学部内科学系血液腫瘍内科：博士学生)

川島 雅晴

(東海大学医学部内科学系血液腫瘍内科：博士学生)

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

本研究においては、EBV 関連リンパ腫における新規小分子 RNA を同定した。しかしながら、その生成過程が microRNA などの既存の機序ではないことが明らかになった。上記新規小分子の生物学的意義を明らかにするためには、生成過程の解明は必須であるため、今後は網羅的にその生成過程の分子機構を明らかにしていく。

#### 発表論文

- ・ Kotaki R, Higuchi H, Ogiya D, Katahira Y, Kurosaki N, Yukihiro N, Ogata J, Yamamoto H, Mohamad Alba S, Azhim A, Kitajima T, Inoue S, Morishita K, Ono K, Koyama-Nasu R, Kotani A. Imbalanced expression of polycistronic miRNA in acute myeloid leukemia. Int J Hematol. 2017; 106(6):811-9. doi: 10.1007/s12185-017-2314-1
- ・ Kotaki R, Koyama-Nasu R, Yamakawa N, \*Kotani A. miRNAs in Normal and Malignant Hematopoiesis. Int. J. Mol. Sci. 2017; 18(7):1495. doi:10.3390/ijms18071495

## 重1-6

## 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：准教授)

共同研究者：石田 隆史

(福島県立医科大学循環器内科学：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、被爆者の追跡調査と早老症の病態をヒントに、ゲノム損傷・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し、その機序として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、本評価法が喫煙のリスクやCT被ばくの影響を敏感に閾知できることを明らかにした。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

1. Sakai C, Ishida M, Ohba H, Yamashita H, Uchida H, Yoshizumi M, Ishida T. Fish oil omega-3 polyunsaturated fatty acids attenuate oxidative stress-induced DNA damage in vascular endothelial cells. PLoS One. 12(11):e0187934, 2017
2. Fukumoto W, Ishida M, Sakai C, Tashiro S, Ishida T, Nakano Y, Tatsugami F, Awai K. DNA damage in lymphocytes induced by cardiac CT and comparison with physical exposure parameters. Eur Radiol. 27(4):1660-1666, 2017
3. Andi Ariyandy, Chiemi Sakai, Mari Ishida, Ryusei Mizuta, Kiyoshi Miyagawa, Satoshi Tashiro, Aiko

Kinomura, Koji Hiraaki, Keitaro Ueda, Masao Yoshizumi, Takafumi Ishida. XRCC3 polymorphism is associated with hypertension-induced left ventricular hypertrophy. Hypertens Res. In press.

## 重1-7

## 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

(長崎大学原研医療：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 を対象とし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。また、フローサイトメトリーによる  $\gamma$ H2AX を指標とした定量を、各種細胞株を用いて試みている。これらの解析手法と、オラバリブなどの PARP 阻害剤、BRCA に対する siRNA を使用して DNA 修復能の変化を観察している。今後、各解析手法を最適化していく予定である。

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。これらの細胞より DNA を抽出し、アレイ CGH による解析を行っている。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1-8

## 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

(量子科学技術研究開発機構：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

ゲノム障害に対する生体恒常性維持・変容機構に関して、DNA 修復、アポトーシス誘導、幹細胞の分化誘導に関する研究を行った。特に、本研究では、RAD52 のアセチル化修飾を発見し、その役割の解明に関して成果が得られた。ヒト RAD52 は、DNA 二重鎖切断 (DSB) 部位で、p300/CBP のヒストンアセチル化酵素によって 13 箇所のリジンが修飾を受けた。その後、DSB 部位に集積したヒストン脱アセチル化酵素である SIRT2/SIRT3 によって脱アセチル化されることも明らかにした。13 箇所のアセチル化部位の内、C 末端の 3 箇所のリジンは核移行に必要である。それ以外の 10 箇所をアルギンに置換した RAD52 10xR 変異体の発現細胞では、放射線照射後の相同組換えが阻害されることを明らかにしていた。今年度は、CRISPR-Cas9 によるゲノム編集を用いて、内在性の RAD52 を 10xR 変異体に置き換えた細胞を用いて、DR-GFP アッセイによる相同組換えの実験を行った。その結果、この実験でも、RAD52 10xR 変異体により相同組換えが阻害された。さらに、酵母 two-hybrid 法により、RAD52 のアセチル化類似変異により、RAD52 と RAD51 や RPA との相互作用の強くなった。従って、RAD52 のアセチル化は、タンパク質間相互作用を制御することにより、相同組換えに関わることを明らかにした。この成果を PLOS Genetics で発表した。今後、さらにこの分子機構を深く追求したい。

## 発表論文

Yasuda T., Kagawa W, Ogi T, Kato TA, Suzuki T, Dohmae N, Takizawa K, Nakazawa Y., Genet MD, Saotome M, Hama M, Konishi T, Nakajima NI, Hazawa M, Tomita M, Koike M, Noshiro K, Tomiyama K, Obara C, Gotoh T, Uii A, Fujimori A, Nakayama F, Hanaoka F, Sugawara K, Okayasu R, Jeggo PA, Tajima K. Novel Function of HATs and HDACs in Homologous Recombination through Acetylation of Human RAD52



at Double-Strand Break Sites. *PLOS Genetics*, 2018.  
accepted.

## 重1-9

### 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

(広島大学放射線医科学研究所：所内講師)

#### 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、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、転写因子 DEC による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、放射線治療の増感および防護の分子標的候補として、転写因子 DEC が同定された。

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法開発研究を進めている。

#### 発表論文

Hideaki Nakamura, Hidemasa Bono, Keiko Hiyama, Takeshi Kawamoto, Yukio Kato, Takeshi Nakanishi, Masahiko Nishiyama, Eiso Hiyama, Nobuyuki Hirohashi, Eisaburo Sueoka, Lorenz Poellinger, and Keiji Tanimoto\*.



Differentiated Embryo Chondrocyte plays a crucial role in DNA damage response *via* transcriptional regulation under hypoxic conditions. *PLOS ONE* 2018, 13(2): e0192136.

### 重1-10

## 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：横井 雅幸

(神戸大学バイオシグナル総合研究センター：准教授)

酒井 恒

(神戸大学バイオシグナル総合研究センター：助教)

日下部 将之

(神戸大学バイオシグナル総合研究センター：学術研究員)

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

哺乳類のヌ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。昨年度までに、XPC が脱アセチル化ヒストン H3 と直接相互作用し、この相互作用が XPC の核内局在や DNA 損傷認識の制御に関与する可能性を示したが、平成 29 年度は蛍光タンパク質を融合した XPC の局所紫外線照射部位への集積をライブイメージングにより観察し、この過程に影響を与えるクロマチン構造関連因子を siRNA ライブラリーを用いてスクリーニングした。これまでにヒストン修飾に関わる因子等が得られており、それらが細胞の紫外線感受性や紫外線照射後の DNA 損傷修復速度に与える影響を調べている。また、XPC と相互作用し、塩基除去修復とエピゲノム制御に関わるチミン DNA グリコシラーゼが細胞の紫外線応答を制御する分子機構について、NER と転写制御の両面から解析を行った。

今後は、NER の開始において重要な役割を担うクロマチン構造制御機構を分子レベルで明らかにするとともに、損傷 DNA と精製ヒストンにより再構成したクロマチン基質を用いた無細胞 NER 反応系においてその機能を再現することを目指す。

### 発表論文

Nakamura T, Murakami K, Tada H, Uehara Y, Nogami J, Maehara K, Ohkawa Y, Saitoh H, Nishitani H, Ono T,

Nishi R, Yokoi M, Sakai W, Sugawara K. (2017). Thymine DNA glycosylase modulates DNA damage response and gene expression by base excision repair-dependent and independent mechanisms. *Genes Cells* 22, 392-405.

### 重1-11

### 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

(広島大学医歯薬保健学研究院 脳神経外科学:研究員)

共同研究者：栗栖 薫

(広島大学医歯薬保健学研究院 脳神経外科学:教授)

高安 武志

(広島大学医歯薬保健学研究院 脳神経外科学:医員)

碓井 智

(広島大学医歯薬保健学研究院 脳神経外科学:医員)

露口 冨

(広島大学医歯薬保健学研究院 脳神経外科学: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、悪性グリオーマ細胞に対し、放射線照射と細胞周期、細胞死との関連性を明らかにすること、ならびに、悪性脳腫瘍に対する中性子捕捉療法の開発研究の過程で問題となる、 $\gamma$ 線による細胞障害性を明らかにすることを目的として、悪性グリオーマ培養細胞に対して放射線照射を行った。その後、細胞周期調節因子である p16 遺伝子発現アデノウイルスベクターを感染させ、コロニー法などを行って、予備実験を行った。同時に大阪大学核物理学研究所において中性子照射実験も行っていて、混入  $\gamma$  線と培養細胞との関連性について検討を始めたところである。平成 30 年度も照射実験を繰り返し、研究を進めていく予定である。

#### 発表論文

特にありません

## 重1-12

## 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)

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す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している。

放射線照射後に生じる突然変異は、非相同末端連結 (NHEJ) を介して引き起こされる。申請者は NHEJ および相同組換え (HR) の経路選択性の研究を行ってきた。近年、放射線照射によって生じる DSB は NHEJ が優位であることが明らかになりつつある。本研究では、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/XLF/XRCC4 に着目しモニタリングする。

本年度は、CRISPR/Cas9 システムを用いて、内在性 Ku80 遺伝子の C 末側に蛍光遺伝子である mClover の導入を行うことを目標とした。また、AID システムを導入することで、オーキシン添加により一過性の Ku80 ノックアウト状態を作ること考えている。本年度は、CRISPR/Cas9 による Ku80-mClover-AID ターゲティングベクターを作成した。また、AID システムに必須な遺伝子である OsTIR を発現する U2OS mCherry-Geminin 細胞を樹立した。放射線照射後の NHEJ 分子を継時的にモニタリングすることにより、NHEJ の寄与率や、NHEJ が DSB 発生後どの時期から機能するかが明らかになると考えている。NHEJ による修復は転座を誘引する可能性がある。放射線誘発染色体転座研究を専門とする山内基弘助教 (受け入れ研究者) と共同研究体制を取ることで、本研究の成果は転座発生メカニズム解明へと応用する。また本研究の達成は、放射線照射誘発によるゲノム不安定化のメカニズム

を深部にまで明らかにすることとなる。現在、DSB 修復経路選択機構の研究テーマは世界的に大きなトピックスである。本研究成果は国際学会での報告及び学術誌へ掲載を介し広く世界へ発信する。

## 発表論文

1. Hiro Sato, Atsuko Niimi, Takaaki Yasuhara, Tiara Bunga Mayang Permata, Yoshihiko Hagiwara, Mayu Isono, Endang Nuryadi, Ryota Sekine, Takahiro Oike, Sangeeta Kakoti, Yuya Yoshimoto, Kathryn D. Held, Yoshiyuki Suzuki, Koji Kono, Kiyoshi Miyagawa, Takashi Nakano and Atsushi Shibata\*, DNA double-strand break repair pathway regulates PD-L1 expression in cancer cells, Nature Communications, 8(1):1751, 2017. IF: 12.124, \*Corresponding author
2. Yoshihiko Hagiwara, Atsuko Niimi, Mayu Isono, Motohiro Yamauchi, Takaaki Yasuhara, Siripan Limsirichaikul, Takahiro Oike, Hiro Sato, Kathryn D. Held, Takashi Nakano and Atsushi Shibata\*, 3D-structured illumination microscopy reveals clustered DNA double-strand break formation in widespread  $\gamma$ H2AX foci after high LET heavy-ion particle radiation. Oncotarget, 8:109370-109381, 2017. \*Corresponding author

## 重1-13

## 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科：教授)

共同研究者：金子 雅幸

(広島大学医歯薬保健学研究科：准教授)

金本 聡自

(広島大学医歯薬保健学研究科：講師)

浅田 梨絵

(広島大学医歯薬保健学研究科：助教)

大竹 洋輔

(広島大学医歯薬保健学研究科：特任助教)

安田 恭大

(広島大学医歯薬保健学研究科：助教)

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)

蔡 龍傑

(広島大学医歯薬保健学研究科：大学院生)

郭 曉鵬

(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科：技術補佐員)

齋藤 敦

(広島大学医歯薬保健学研究科：准教授)

松久 幸司

(広島大学医歯薬保健学研究科：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。今年度は次の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。培養細胞にX線照射処理すると、小胞体膜局在転写因子OASISは小胞体だけでなく核膜にも局在した。

OASISが局在した核膜領域では核ラミナ形成タンパク質Laminの発現が消失しており、核膜崩壊が生じていることが示唆された。現在、その生理的意義について検討している。(2) 腎組織に高発現する機能未知のRING-fingerタイプ膜貫通型ユビキチンリガーゼRNF183について解析した。RNF183は主に、小胞体、ゴルジ体、リソソームに局在し、また、輸送小胞形成に携わる分子Sec16Aと結合することで安定化することを明らかにした。

## 発表論文

Wu Y, Guo XP, Kanemoto S, Maeoka Y, Saito A, Asada R, Matsuhisa K, Ohtake Y, Imaizumi K, Kaneko M. Sec16A, a key protein in COPII vesicle formation, regulates the stability and localization of the novel ubiquitin ligase RNF183. PLoS One. 2018 Jan 4;13(1):e0190407.

## 重1-14

## 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)

上田 将信

(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)

河合 秀彦

(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：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、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、これまでに開発した各種 DNA 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、に取り組んでおり、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で働くキー因子の同定を試みている。

今年度は、1) で特に進展があり、低分子化合物で誘導される基本転写因子／DNA 修復因子 TFIIH の XPB サブユニットの分解に関わる E3 リガーゼの同定に成功した。スクリーニングでヒットした複数の候補因子のうち、1つの因子をノックダウンすることで XPB の誘導分解が顕著に抑制され、またこの因子を含む E3 リガーゼの活性化阻害剤でも同様の抑制が見られたことから、この結論に至った。今後は、昨年度明らかにした別の低分子化合物による ERCC1-XPF の分解に関わる E3 リガーゼと対比しながら解析を進め、DNA 修復因子の細胞内安定性に関わる仕組みを明らかにしていきたい。

## 発表論文

Mishima, T., Fukaya, S., Toda, S., Ando, Y., Matsunaga, T. and Inobe, M. (2017). Rapid G0/1 transition and cell cycle progression in CD8+ T Cells compared to CD4+ T

Cells following in vitro stimulation., Microbiol. Immunol., 61, 168-175.

Sakasai, R., Isono, M., Wakasugi, M., Hashimoto, M., Sunatani, Y., Matsui, T., Shibata, A., Matsunaga, T. and Iwabuchi, K. (2017). Aquarius is required for proper CtIP expression and homologous recombination repair, Sci. Rep., 7 (1), 13808.

## 重1-15

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

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。本研究の目的は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。そのために、申請者が先行開発してい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。特に分化増殖に伴って染色体サイクルと密に連動する中心体は、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、解析候補となり得る申請者保有の中心体分子群（猪子ら2012JCB等）の利活用によって、重点解析の対象とする。

本研究で申請者は、正常な階層分化を示す上皮初代培養法を昨年度確立した。本年度は本法でがん患者検体から細胞を単離培養したところ、分化異常を示すクローンを複数獲得できた。この細胞異常の分子責任を調べたところ、チェックポイント蛋白質の異常と同時に中心体に由来する微小管の構築異常を示したことから、染色体監視・中心体微小管・細胞分化の間に密接なパスウェイ相関が存在することが強く示唆された。今後は発現解析・変異解析を行うことで、中核となる分子連関の抽出を目指す。また、個別遺伝子をゲノム編集により破壊または修復することで個別遺伝子と細胞現象相関の序列関係を確認する。

同時に本年度は、中心体動態の足場となるこれまでにない蛋白質の機能を同定した。このAlbatross/FBF1蛋白質は上皮細胞極性の制御因子であることが申請者により同定されていたが（猪子ら2008JCB）、今回主要な中心体動態である「線毛形成、中心小体複製、紡錘体形成」の全てに関わることが明らかになった（Scientific Reports 査読中）。今後、これらの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に努める。

## 発表論文

Scientific Reports 査読中。



## 重1-16

## 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

(大分大学医学部附属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

染色体の2重鎖切断は、生体へのダメージ（特に遺伝子に対するダメージ）として最も危険なものと分類される。今、問題となっているセシウム 137 はバリウムへと原子崩壊する過程で、電離放射線を発生する。電離放射線は、そのエネルギーを介して遊離ラジカルを発生させることで2重鎖切断を誘発する。これまでの研究から、放射線によるDNA切断は非特異的に起きると考えられており、染色体上でランダムに2重鎖切断を導入すると考えられている。しかし、電離放射線がDNAを切断した部位を塩基配列レベルで解析した研究の実施例は少ない。この点を解明するために、我々はDNAの2重鎖切断部位を塩基配列レベルでマッピングすることができる実験手法の開発に着手している。パルスフィールド電気泳動で2重鎖切断断片を分離し、そのDNA断片を回収し、塩基配列を決定した後、染色体上で切断部位をマッピングするということを目標としている。本年度は、この技術を確立するための検証実験を行った。第1段階であるパルスフィールド電気泳動で分離したDNA断片を次世代シーケンサーで解析するという目標は達成できた。そこで、現在は、2重鎖切断が起きたDNAの末端部分を修飾し、2重鎖切断断片を回収するという手法の条件検討を行なっている。これにより、電離放射線によって生じた2重鎖切断のDNA末端部分だけを分離することが可能となるはずである。この実験手法を確立させ、放射線やDNAダメージ物質が、染色体のどの領域にDNA切断を導入するのかを解明する研究へと発展させたい。

## 発表論文

Kawashima Y, Yamaguchi N, Teshima R, Narahara H, Yamaoka Y, Anai H, Nishida Y, Hanada K. Detection of DNA double-strand breaks by pulsed-field gel electrophoresis. *Genes Cells*, 22, 84-93 (2017)

## 重1-17

## 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：笹谷 めぐみ

(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

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 $\epsilon$  または Pol $\delta$ ) が損傷塩基に遭遇することは避けられない。この際、Pol $\epsilon$  または Pol $\delta$  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 $\eta$ , Pol $\iota$ , Pol $\kappa$ , 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 $\delta$ とPol $\eta$ 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ている。

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に着目して研究を行った。まずは、HeLa細胞でHLTF遺伝子の破壊した細胞を構築した。次に野生型のHLTFをこの培養細胞で発現させることによるHLTF遺伝子の機能解析について検討した。今後は、HLTF変異体の解析を行う予定である。

## 発表論文

なし

## 重1-18

## 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：所内講師)

## 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た。

低酸素環境は正常幹細胞の維持に重要であることが示されている。また、がん細胞においても、低酸素刺激により幹細胞様形質 (stemness) の獲得、上皮間葉移行 (EMT) の促進などが観察され、低酸素シグナルによる幹細胞性維持機構と放射線等による治療応答性の関連性が注目されている。我々は、以前に、iPS 細胞誘導因子として同定された *GLIS1* 遺伝子が、低酸素環境下において最も重要な転写因子の一つ EPAS1 (HIF-2 $\alpha$ ) により誘導される機構について報告したが、現在はその分子機能について解析を進めている。siRNA を用いた *GLIS1* 抑制実験において、乳がん細胞の増殖およびスフェア形成能が亢進する、すなわち *GLIS1* が抑制していた可能性が確認されている。さらに、マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析では、*GLIS1* が組織リモデリング、EMT、脂肪生成、イノシトールリン脂質、細胞周期、p53 シグナル等と関連することが明らかとなった。さらに、*GLIS1* を高発現させた乳がん細胞では、放射線に抵抗性となる可能性が得られている。

現在、分子機構、放射線や抗がん剤治療の感受性変化など、さらなる詳細な検討が進行中である。

## 発表論文

今年度は未発表

## 重1-19

## 放射線で生じる DNA 二重鎖切断による転写抑制と染色体不安定性機構

## 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)

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 (DSB) は細胞にとって致命的である。また、DSB 修復異常は染色体不安定性を引き起こし、細胞がん化や老化の原因となる。我々は近年、DSB 発生時に、毛細血管拡張症の原因遺伝子の ATM と転写因子の MLLT1/Polycomb が協調して機能することにより、DSB 修復と転写が共役して働き、染色体安定性を維持していることを見出した (Ui et al, Mol Cell, 2015; Ui et al., Nucleus, 2016)。しかし、そのメカニズムの詳細は不明な点が多いため、放射線照射による染色体安定性維持機構における DSB 修復と転写の共役機構のメカニズムを明らかにすることを目的とした。放射線による DSB 部位における DSB 修復とその近傍の転写制御に関して明らかにするとともに、どのような転写因子や DSB 因子が結合するのかを同定する。現在、転写に関与する因子である CDK9 と MLL のノックダウン細胞で DSB 応答因子の BRCA1 や 53BP1 の DSB 部位への集積を観察中である。今後は、これらの因子自体も DSB 部位に集積するかどうか検討していきたい。

## 発表論文

Watanabe R, Kanno SI, Mohammadi Roushandeh A, Ui A, Yasui A. Nucleosome remodelling, DNA repair and transcriptional regulation build negative feedback loops in cancer and cellular ageing. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 5, 372, 1731, 2017

## 重1-20

### 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

(放射線影響研究所分子生物科学部: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、被ばくから時間を経て起こる突然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 損傷の中には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元となり生じる遅発性の突然変異細胞の *in vivo* での検出方法の開発を行った。また、修復が困難な損傷の検出、あるいは修復が困難な損傷を持った細胞の検出は、新しい生物線量測定方法(バイオドシメトリー)に道を拓くものとも考え、その定量方法を検討した。

今後は、修復が困難な損傷を持つ細胞に特徴的なマーカータンパク質(バイオマーカー)の同定を試みる。

#### 発表論文

Noda A. Radiation-induced unrepairable DSBs: Their role in the late effects of radiation and possible applications to biodosimetry. J. Radiat Res, 2017, pp1-7, doi:10.1093/jrr/rrx074

## 重1-21

### 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)

共同研究者：常松 貴明

(徳島大学大学院医歯薬学研究部:助教)

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

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。

これまでの共同研究により、①細胞静止期である G 0 期では、CDT1 のタンパク量が減少し、G 0 から G 1 期に移行する際にタンパク量が増加する、② G 0 期における CDT1 タンパクの発現低下は、プロテアソーム阻害剤である MG132 の投与により増加したことから、ユビキチン分解により発現が低下する、③ G 0 期における CDT1 タンパクの発現低下は、APC/C<sup>Cdh1</sup> (anaphase promoting complex/cyclosome) ユビキチンリガーゼ複合体によるユビキチン分解により引き起こされることを明らかにした。これらの結果から、G 1 期においても APC/C<sup>Cdh1</sup> の活性があることが知られていることから、G 1 期における CDT1 のタンパク量の増加は、APC/C<sup>Cdh1</sup> によるユビキチン分解の抑制によると考えられた。そこで、G 1 期における CDT1 のユビキチン分解阻害に分解を阻害するリン酸化を含めたタンパク修飾が関与すると考え、種々の阻害剤を用いて、CDT1 のタンパク発現への影響を検討したところ、Cyclin-dependent kinase (Cdk) 阻害剤である roscovitine の投与により、G 1 期における CDT1 タン

パクの発現量の増加がみられなかったことから、Cyclin/Cdk による CDT1 のリン酸化が APC/C<sup>Cdh1</sup> によるユビキチン分解を阻害することが明らかとなった。さらに、種々の Cyclin/Cdk の特異的阻害剤を用いて、G 1 期における CDT1 タンパクの発現量を検討したところ、Cyclin D/Cdk4/6 および Cyclin E/Cdk2 により CDT1 がリン酸化されている可能性が考えられた。現在、これら Cyclin/Cdk による CDT1 のリン酸化部位を含めた詳細な解析をしている。

#### 発表論文

なし

#### 重1-22

### *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: Department of Human Physiology, Belarusian State Medical University, Belarus)

Joint Researchers: V. FIRAGO (Associate professor: Department of Quantum radiophysics and Optoelectronics, Belarusian State Medical University, Belarus)

S. LISENKO (Associate professor: Department of Quantum radiophysics and Optoelectronics, Belarusian State Medical University, Belarus)

I. STETSKO (Head of Data-Measuring Systems Laboratory: Department of Informatics and Computer Systems, Belarusian State Medical University, Belarus)

A.ANISIMOV (Postgraduate student: Department of Human Physiology, Belarusian State Medical University, Belarus)

E.BUR (Postgraduate student: Department of Human Physiology, Belarusian State Medical University, Belarus)

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

Resident Researcher: J.TAKAHASHI (Assistant Professor, Center for International Collaborative Researches, Nagasaki University)

#### Contents, Results, and Prospects of Study:

The analysis of the results of spectroscopic measurements has been carried out in 60 young healthy people. The parameters obtained: volume of the micro vessels in the thenar tissues, the oxyhemoglobin content in blood of these vessels and their response to the blood flow cessation (1); to the blood flow restoration (2); to the restriction of arterial blood inflow with blockade of venous outflow (3); to the final blood flow restoration (4). The initial volume of micro vessels was  $0.65 \pm 0.27$  % and the content of HbO<sub>2</sub> in blood was  $71.8 \pm 9.8\%$ .



These parameters have changed under conditions: 1) a decrease of the vessels volume and the content of HbO<sub>2</sub>; 2) an increase of the vessels volume and the content of HbO<sub>2</sub>; 3) an increase of the vessels volume and decrease of the content of HbO<sub>2</sub>; 4) restoration of the initial values. The revealed character and direction of the changes are consistent with the existing concepts of the physiological and pathophysiological mechanisms of vascular and tissue metabolism response to the local blood flow disorders. The spectrometry method can be used to assess the compliance of microcirculation to the tissues metabolic needs under the conditions of functional stress and pathology.

#### Presented papers:

1. Kubarko A.I., Bur E.A., Kubarko Y.A. & Avdei L.L. State of Retina Vessels, Light Sensitivity of the Visual System and their Correlation with Brain Structural Changes. Neotlozhnaya kardiologiya i kardiovaskulyarnye riski [Emergency cardiology and cardiovascular risks], 1(1), 90-98 (2017)
2. V.A. Firago, A.I. Kubarko, I.A. Sakovich & M.A. Surovcev. The Registration of Spectrums of Diffuse Scattering of the Biological Tissues. Quantum Electronics: materials of the XI international science-technical conference, Minsk 13<sup>th</sup>-17<sup>th</sup> November 2017 / Belorussian State University: ed. M.M. Kugeiko et al., Minsk, pp.311-313 (2017)
3. V.A. Firago, A.I. Kubarko, N. Hayashida, O. Hotra, I.A. Volkova & J.Takahashi. Determination of distributions of diameter and cross-sectional area of inner lumen of visible vessels of the bulbar conjunctiva. The manuscript of this article is presented to "Proceeding of Singapore Healthcare" Journal, Much (2018)

#### 重1-23

### 放射線照射により発生する DNA 二重鎖切断の修復におけるユビキチン E3 ライゲースの機能解析

#### 研究組織

共同研究代表者：岡田 麻衣子

(聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター：研究員)

共同研究者：宇井 彩子

(東京工科大学応用生物学部：准教授)

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 (DSB) は細胞で最も重篤な DNA 損傷である。このため、DSB 修復異常は染色体不安定化を惹起し、発がんの主要因となることが知られている。DSB 修復因子群には 53BP1 に代表される NHEJ 因子群と BRCA1 に代表される HR 因子群が知られおり、両因子群は互いに拮抗していることが知られている。我々は両因子の DSB 部位への集積に寄与する因子として、ユビキチン E3 リガーゼである UBE3C を見出してきた。しかしながら、NHEJ と HR の拮抗制御における UBE3C の作用点の詳細は不明であった。そこで本研究では DSB 修復機構における UBE3C の作用点を明確にすることを目的し、UBE3C の相互作用因子群の詳細について検討した。

その結果、UBE3C 発現低下細胞では DSB 部位への 53BP1 の集積が停滞しており、それに伴い BRCA1 や後続の HR 因子群の集積のタイミングが遅延する可能性が示された。また、BRCA1 については DSB 部位への集積のタイミングに加え集積量自体の減弱が観察された。この主要因として UBE3C の発現低下細胞では、放射線照射時に BRCA1 のタンパク質が不安定化する可能示唆された。

以上より、UBE3C は 53BP1 の DSB 部位からの適切な除去を促すことで、間接的に HR 経路の亢進に関与する可能性、および BRCA1 タンパクの安定性に寄与することで直接 HR 経路に関与する可能性が示唆された。

#### 発表論文

特に無し

## 重1-24

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のが期待される。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、上記の臨床症状を示す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 合成期のチェックポイント機構に関与する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1-25

コケイン症候群と紫外線高感受性症候群の  
分子病態解析

## 研究組織

共同研究代表者：賈 楠

(名古屋大学環境医学研究所：特任助教)

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)

## 研究内容・研究成果・今後の展望等

紫外線による DNA 損傷を修復する機構の 1 つでヌクレオチド除去修復 (nucleotide-excision repair: NER) のサブパスウェイである transcription-coupled repair (TCR) の先天的な異常により、病態の重篤度が異なるコケイン症候群 (Cockayne syndrome: CS) や紫外線高感受性症候群 (UV-sensitive syndrome: UVSS) を発症する。病態の差が現れる原因は未だ不明であり、遺伝子変異のタイプと病態との関係も明らかになっていない。

本研究では、コケイン症候群や紫外線高感受性症候群の患者を世界的に収集し、その疾患発症原因となっている遺伝子変異の同定を行い、病態と関連遺伝子変異との関係を分子・細胞生物学的手法を用いて調査した。

今後は、収集したこれらの症例を用いて、コケイン症候群関連疾患の病態の重篤度の違いをもたらす原因を詳細に解析したいと考えている。

## 発表論文



## 重1-26

### 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

(公益財団法人がん研究会がん研究所：部長)

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

本研究では、機械学習により画像を解析するアルゴリズムであるウインチャーム (wndchrm) を用いて、胃がん患者組織の形態より病態を分類・推定することを試みた。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) の組織画像データセットを作成した。これらをウインチャーム解析に適用したところ、高い感度と特異度をもってがんと正常、あるいはがんの分化度の分類を行えることを明らかにした。主に細胞核因子を染色するヘマトキシリン由来のシグナルと細胞質因子を染色するエオシン由来のシグナルを画像プログラム上で分けて同様の解析を行った結果、どちらも高精度の分類に貢献することが示唆された。

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。よって今後は、核内因子の免疫染色画像を取得し、これらと HE 染色との関連性などを解析したい。

#### 発表論文

1. Ono, T., Sakamoto, C., Nakao, N., Saitoh, N. and Hirano, T.\* Condensin II plays an essential role in reversible assembly of mitotic chromosomes *in situ*. *Mol. Biol. Cell*, 28:2875-2886 doi: 10.1091/mbc.E17-04-0252.
2. Wang, X., Liang, S., Sun, Y., Li, H., Endo, F., Nakao, M., Saitoh, N. \* and Lijie Wu. \* Analysis of estrogen receptor beta gene methylation in autistic males in a Chinese Han population. *Metabolic Brain Disease*. 2017. doi: 10.1007/s11011-017-9990-7

## 重1-27

### 細胞核内アクチンと 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)

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

これまでの研究により、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。出芽酵母を用いた研究からは、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。本研究では、細胞核に存在するアクチンファミリーに注目して解析を行う。興味深いことに、アクチンファミリーのいくつかの分子種は、細胞核に局在している。これまでの研究から、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おり、その分子機構の解析を行った。細胞核内のアクチンファミリーが、細胞核構造構築と DNA 修復プロセス制御にどのように関与するかについて解析を目的として、核内にアクチンフィラメントを人為的に作成し、それに伴う細胞核構造の変化、DNA 修復プロセスへの影響などを解析した。その結果、核内のアクチンフィラメントの形成変化により、DNA 損傷試薬に対する細胞の感受性が変化することが示された。また、アクチンファミリー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。クロマチン核内空間配置を決定する上で、細胞核構造-クロマチン相互作用は重要であり、その分子機構を明らかにすることにより、染色体転座などのメカニズムの一端が明らかにできることが期待される。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1-28

## 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：教授)

共同研究者：有村 泰宏

(早稲田大学：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ている。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。がんゲノムデータベースから見出したヒストン点変異が、相同対合反応の抑制不全、および早期染色分体分離異常を引き起こすことが示唆された。共同研究者の胡桃坂（早稲田大学）は、がんゲノムデータベースから見出したヒストン点変異が、ヌクレオソームの立体構造を変化させ、ヌクレオソームの安定性を著しく低下させることを、リコンビナントタンパク質を用いた試験管内ヌクレオソーム再構成システムを用いて、発見していた。そこで、これらのヒストンの点変異が、生細胞内において及ぼす影響を明らかにするために、変異ヒストンを安定発現する培養細胞を用いて、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。その結果、がんゲノムデータベースから見出したヒストン点変異が、染色体の安定維持に欠損を有することが分かった。

## 発表論文

なし

## 重1-29

## 転写依存的 DNA 鎖切断修復の解析

## 研究組織

共同研究代表者：倉岡 功

(福岡大学理学部化学科：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

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、転写反応を担うRNAポリメラーゼをも阻害することが容易に想像される。この研究は、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ている。

現在までに、損傷の影響を転写反応中で解析するため、様々なDNA基質を準備したが、一つの問題として、放射線が生じるDNA損傷が直接影響による二本鎖DNA切断ではなく、間接影響により生じる活性酸素からのクラスターDNA損傷が重要であることが考えられた。そこで改めてクラスターDNA損傷がどのように二本鎖DNA切断を生じるのかを解析することにした。現在、クラスターDNA損傷の一部である8-オキシグアニンからのDNA切断を観察する実験系を作製した。今後はこれを用いてDNA鎖切断の発生機構およびそこに関与する転写機構と共役したDNA切断修復を解析する予定である。

## 発表論文

- 1 : Takatsuka R, Ito S, Iwai S, Kuraoka I. An assay to detect DNA-damaging agents that induce nucleotide excision-repairable DNA lesions in living human cells. *Mutat Res.* 2017 Aug;820:1-7. doi: 10.1016/j.mrgentox.2017.05.009. Epub 2017 May 22. PubMed PMID: 28676261.
- 2 : 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. Epub 2017 Mar 30. PubMed PMID:28366639.

### 重1-30

## 放射線が細胞内 DNA 損傷修復モードに与える影響

### 研究組織

共同研究代表者：篠原 美紀

(近畿大学農学部：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

細胞がゲノム DNA 上の損傷を修復する際に、細胞が低線量電離放射線を浴びた状態、あるいは低線量／高線量被曝をしたという「記憶」が、その後の DNA 損傷修復の経路選択にどのような影響を与えるのかを調べることを目的として研究を行った。具体的には、男性由来のヒト培養細胞 HCT116 株の X 染色体 HPRT1 遺伝子座に CRISPR/Cas9 による部位特異的 DNA 二本鎖切断を導入し、その修復産物について細胞の生存に影響を与えない程度の放射線照射の有無による差異について解析を行った。その結果、放射線照射ありの場合には放射線照射無しの条件下で観察されなかった特異的な修復産物が観察されたが、現時点では解析数が少ないために、Dose との関係については確定的な相関関係が観察されていない。今後は修復産物の解析に細胞の生死を問わない次世代シーケンスによる塩基配列解析を導入するなどして、解析数をスケールアップして相関関係を示すとともにその際の原因となり得る分子メカニズムの解明を試みる。

### 発表論文

1. Matsuzaki, K., and Shinohara, M. (2018). Casein kinase II phosphorylates the C-terminal region of Lif1 to promote the Lif1-Xrs2 interaction needed for non-homologous end joining. *Biochem Biophys Res Commun* 501, 1080-1084.
2. Tougan, T., Edula, J.R., Takashima, E., Morita, M., Shinohara, M., Shinohara, A., Tsuboi, T., and Horii, T. (2018). Molecular Camouflage of Plasmodium falciparum Merozoites by Binding of Host Vitronectin to P47 Fragment of SERA5. *Sci Rep* 8, 5052.

### 重1-31

## 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ているが、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は不明であった。今回、H2AX を複合体として精製し、その構成因子の中から損傷領域での PARP-1 のクロマチンへの結合とその活性を促す、代謝関連因子の同定に成功した。今後は、その因子の生化学的、細胞生物学的検討を加えて行きたい。

### 発表論文

Fukuto A, Ikura M, Ikura T, Sun J, Horikoshi Y, Shima H, Igarashi K, Kusakabe M, Harata M, Horikoshi N, Kurumizaka H, Kiuchi Y, Tashiro S. SUMO modification system facilitates the exchange of histone variant H2A. Z-2 at DNA damage sites. *Nucleus*. (2018) 9: 87-94.

## 重1-32

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) の役割を知ることを目的とするものである。GFP-BAF を発現させた細胞に対して、細胞核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ところ、放射線照射部位に集積しないという結果が得られている。さらに、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いることから、BAF が、SUMO 修飾を介して、RAD51 の機能に影響を与える可能性を検討した。BAF が SUMO と結合するかどうかを、酵母の 2 ハイブリッドシステムを用いて検討したところ、BAF は、ヒト SUMO1 に結合するが、SUMO2 と SUMO3 には結合しないことが分かった。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

1. Asakawa H, Hiraoka Y, Haraguchi T. (2018). Estimation of GFP-nucleoporin amount based on fluorescence Microscopy. *Methods in Molecular Biology*, 1721:105-115. doi: 10.1007/978-1-4939-7546-4\_10, 2018.
2. Iwamoto M, Hiraoka Y, Haraguchi T. (2018). Newly found Tetrahymena nucleoporins, Nup214, Nup153 and Pom121/Pom82, differentiate nuclear pore complexes of functionally distinct nuclei. *Communicative and Integrative Biology*. <http://dx.doi.org/10.1080/19420889.2017.1384890>
3. Yang H-J, Iwamoto M, Hiraoka Y, Haraguchi T. (2017). Function of nuclear membrane proteins in shaping the nuclear envelope integrity during closed mitosis. *Journal of Biochemistry*, Apr;161(6):471-477. doi: 10.1093/jb/mvx020.

## 重1-33

## 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。申請者らは、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ており、(1) Lem2 破壊株では放射線や紫外線への感受性が上昇すること、(2) 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、(3) この緩和には Lem2 の C 末端領域が必須であることを明らかにした。一方で、Lem2 遺伝子と Rad3 遺伝子 (ヒト ATM ホモログ) を同時に破壊すると著しい生育阻害を示すことを見出した。今後は Lem2 による DNA 損傷修復経路について詳細な解析を進めるとともに、ヒト Lem2 の DNA 損傷修復への関与についても分裂酵母との比較解析を進め、放射線に対するゲノム修復機構の進化保存性を検討する。

## 発表論文

なし



### 重1-34

## 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2年生)

原田 佳歩

(千葉大学 理学部：修士2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NSD2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NSD2の関与を明らかにするために、田代博士の研究室で共焦点顕微鏡を用いてレーザーおよびX線照射によるDNA二本鎖切断(DSB)損傷時のNSD2の挙動を追跡するとともに、NSD2欠損細胞におけるDSB修復因子のDSB応答を、観察してきた。

昨年度、既報告に反してNSD2を欠損したヒトB細胞株Nalm6においてDSB応答因子RAD51のDSB部位への集積が野生型に比べて促進される結果を得た。そこで本年度はNsd2欠損マウスから樹立したマウス線維芽(MEF)細胞を用いて、 $\gamma$ H2AXと53BP1のDSB応答を野生型MEFと比較して解析を行った。その結果、予想したように既報告に反して $\gamma$ H2AXと53BP1のDSB部位への集積異常は認められなかった。以上の結果はNSD2がランダムに形成されるDSB修復に機能するとの既報告とは異なった、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、Nsd2欠損MEFおよびNSD2欠損Nalm6細胞におけるDSB因子の挙動を野生型とより詳細に定量的に比較して、新規のDNA損傷応答機構を提示することを目指す。

### 発表論文

準備中

### 重1-35

## 動物モデルを使った放射線により誘発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)

### 研究内容・研究成果・今後の展望等

＜研究内容＞ 放射線被曝者の集団で循環器疾患の罹患リスクが線量とともに上昇しているという報告がある。我々はモデル動物実験を行い、この報告の検証を行っている。平成28年度に、このプロジェクトで行った、易脳卒中発症性高血圧自然発症ラット(SHRSP)に放射線(0.1Gy)を一括照射した実験では、照射群で非照射群に比べて脳卒中発症時期の早期化が認められた。そこで、更に低い線量(0.05Gy)を一括照射した場合を検証した。同様に本プロジェクトで、線量率の変化に伴う循環器疾患の発症リスクの変化を観る研究を実施した。原医研の低線量率照射装置を用いて、0.05Gy/日および0.1Gy/日の線量率で集積線量が0.5Gyおよび1Gyに成るまでSHRSPに照射した。一括照射の実験と同様に脳卒中の発症時期を指標として放射線の影響を調べた。

＜研究結果＞ 0.05Gyの放射線を一括照射したSHRSPでは脳卒中発症時期の早期化は認められなかった。この結果は、0.05Gyと0.1Gyの間にしきい値が存在する可能性を示唆した。低線量率放射線を照射したSHRSPでは、いずれの群においても非照射群と比較して、発症時期の早期化は認められなかった。この結果は、線量率が循環器疾患の発症リスクに顕著に影響をすることを示唆している。

＜今後の展望＞ 上記のように、一括照射の場合は0.05Gyと0.1Gyとの間にしきい値があると考えられた。放射線に相関する循環器疾患につき、しきい値が存在する可能性が、実験的に明らかになった。0.075Gyを照射した実験により、更に詳細なしきい値の推定を行う。線量率の変化は放射線影響に顕著な影響をおよぼすことが示唆された。今後は、この結果の再現性を確認することに重点を置き研究を行う。これらの結果は、福島原発の事故により被曝した作業員や住民への福祉行政の一助となると

期待している。

発表論文

なし

### 重1-36

## 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：廣末 晃之

(熊本大学 歯科口腔外科学分野：助教)

共同研究者：中山 秀樹

(熊本大学 歯科口腔外科学分野：教授)

松井 啓隆

(熊本大学 臨床病態解析学：教授)

吉田 遼司

(熊本大学 歯科口腔外科学分野：准教授)

中元 雅史

(熊本大学 歯科口腔外科学分野：医員)

松岡 祐一郎

(熊本大学 歯科口腔外科学分野：医員)

坂田 純基

(熊本大学 歯科口腔外科学分野：大学院)

山本 達郎

(熊本大学 歯科口腔外科学分野：大学院)

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難治性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、治療反応性の診断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口腔扁平上皮癌の診断にて当科で術前の化学放射線治療を行った患者の治療前の生検組織よりDNA抽出し、RRBS法による網羅的DNAメチル化解析を次世代シーケンサーを用いて施行した。また、数種類の放射線耐性株および親株より、mRNAを抽出し、マイクロアレイ解析により網羅的な遺伝子発現解析を行った。

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。術前の化学放射線治療を施行した患者の DNA メチル化状態と治療効果との関連性については、治療効果良好群、不良群でメチル化状態に差が見られた。また、DNA メチル化状態と遺伝子発現解析の結果を照らし合わせ、放射線耐性に関与する遺伝子の探索を行なった。

今後はさらに症例を蓄積し、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、治療反応性の診断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1-37

#### *The effect of radiation exposure on cardiac Sca-1-Bmi-1<sup>hi</sup> niche cells*

##### Research Organization:

Representative Joint Researcher: Yucai Xie (Chief Physician: Department of Cardiology, Shanghai Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai, China)

Joint Researchers: Tong Yin (Investigator: The National Research Center for Translational Medicine, Shanghai, China)

Yuewang Song (Postgraduate: Department of Cardiology, Shanghai Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai, China)

Mengmeng Zhao (Postgraduate: Department of Cardiology, Shanghai Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai, China)

Representative Resident Researcher: Taosheng Li (Professor: Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University)

##### Contents, Results and Prospects of Study:

Adult mammals have the limited ability to regenerate cardiomyocytes. By using Bmi-1<sup>GFP/+</sup> mice, we investigated the probable role of Bmi-1 in 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 the main population from CD45<sup>-</sup> Ter119CD31<sup>-</sup> heart cells. More Sca-1<sup>+</sup> cardiac stem cells were found in Bmi-1 GFP<sup>hi</sup> subpopulation, and these Bmi-1 GFP<sup>hi</sup> heart cells showed the potential of differentiation into SMM<sup>+</sup> smooth muscle-like cells and TnT<sup>+</sup> cardiomyocyte-like cells *in vitro*. Myocardial infarction induced a significantly increase of Bmi-1 GFP<sup>hi</sup> population at one week after infarction, suggesting that Bmi-1<sup>hi</sup> heart cells are enriched in cardiac stem cells and may play a role in myocardial repair. We have also discovered a new class of cardiac Sca-1<sup>+</sup>Bmi-1<sup>hi</sup> niche cell subsets, which are beneficial to promote cardiac Sca-1<sup>+</sup>Bmi-1<sup>hi</sup> stem/progenitor cells activation and proliferation. We will test the radiation exposure of Sca-1<sup>+</sup>Bmi-1<sup>hi</sup> cell subsets may damage their supporting function *in vitro* coculture and *in vivo* cardiac regeneration after myocardial infarction.

Presented papers:

No now.

### 重1-38

### *The phosphorylation-specific association of Stathmin1 and DNA damage response in breast cancer metastasis*

#### Research Organization:

Representative Joint Researcher: Xiaying Kuang  
(Resident: Breast Cancer Center, The First Affiliated Hospital, Sun Yat-Sen University, China)

Representative Resident Researcher: Tao-Sheng Li  
(Professor: Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University)

#### Contents, Results and Prospects of Study:

##### Contents

Metastasis is a major cause of death in patients with breast cancer. Stathmin1 (STMN1) is a phosphoprotein associated with cancer metastasis. It exhibits a complicated phosphorylation pattern in response to various extracellular signals, but its signaling mechanism is poorly understood. In this study, we report that phosphorylation of STMN1 at Ser25 and Ser38 is necessary to maintain cell migration capabilities and is associated with shorter disease-free survival (DFS) in breast cancer. In addition, We also confirm the relationship between STMN1 phosphorylation and cancer metastasis through in vitro and in vivo approaches, by targeting STMN1 phosphorylation in a tumor-bearing animal model, and propose a prognostic model based on phospho-STMN1 to assess metastatic risk in breast cancer patients.

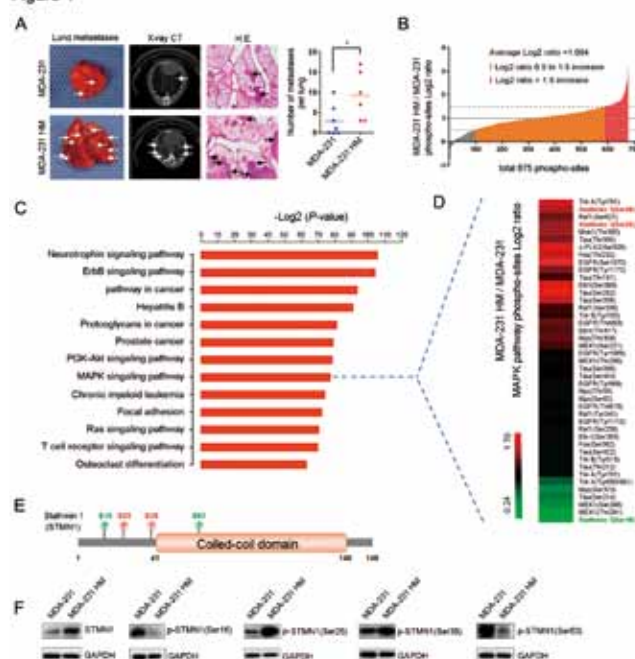
##### Results

#### Identification of STMN1 phosphorylation sites in a highly metastatic cell line

We induced MDA-MB-231-HM invasiveness [1] *in vivo* by injecting them into nude mice (n=8 for each group). CT imaging and histologic analysis confirmed that MDA-MB-231-HM cells had an increased ability to metastasize to the lungs compared to the parental MDA-MB-213 control. After two weeks, spontaneous pulmonary metastases developed in 100% of the mice, whereas the incidence of pulmonary metastasis in mice injected with the parental MDA-MB-231 cells was less than 50% (Figure 1A).

We next used a phospho-specific protein microarray containing 1318 phosphoprotein antibodies to characterize the difference in phosphorylation patterns between MDA-MB-231 and MDA-MB-231-HM cells. More proteins were phosphorylated in MDA-MB-231-HM cells than MDA-MB-231 cells (**Figure 1B**). We performed gene ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) analyses to determine the enriched pathways in the highly metastatic MDA-MB-231-HM cells (**Figure 1C**). KEGG analysis revealed that the MAPK pathway was activated in MDA-MB-231-HM cells (**Supplementary Figure S1**). We found that STMN1, a protein known to be highly expressed in multiple cancers and a downstream target of the MAPK pathway [2-4], exhibited a different phosphorylation pattern in MDA-MB-231-HM cells compared to control cells. STMN1 mRNA and protein levels were higher in multiple breast cancer-derived cell lines compared to normal mammary MCF-10A cells (**Supplementary Figure S2**). STMN1 has four serine phosphorylation sites (Ser16, Ser25, Ser38, and Ser63; **Figure 1E**) [5], and our phosphorylation microarray identified three of these sites, Ser16, Ser25, and Ser38. Our results demonstrate that Ser25 and Ser38 phosphorylation was increased and Ser16 phosphorylation was decreased in MDA-MB-231-HM cells (**Figure 1D**). We confirmed our microarray results by Western blot analysis (**Figure 1F**).

Figure 1



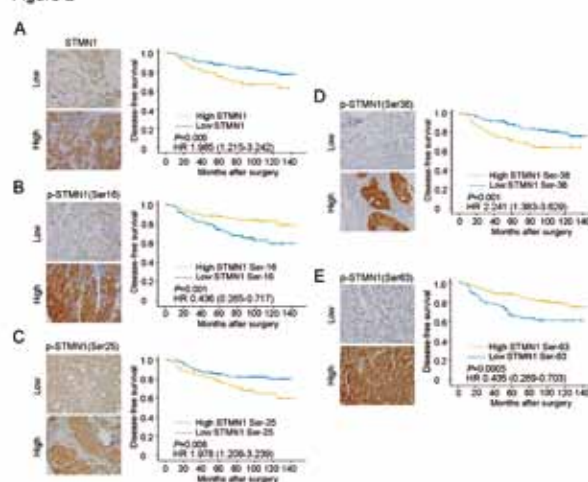
**Figure 1.** Differential expression of phospho-STMN1 between MDA-231 and MDA-231 HM cell lines

## STMN1 phosphorylation state is correlated with clinical outcomes in breast cancer patients

We previously examined the correlation between phospho-STMN1 status and disease-free survival (DFS) of breast cancer patients in two cohorts [6]. In this study, we combined a total of 310 patients from the two cohorts with histologically confirmed stage I to III primary breast cancer.

Kaplan-Meier analysis showed that patients with high STMN1 protein levels had a higher incidence of recurrence ( $P=0.005$ ; HR=1.985, 95% CI: 1.215-3.204; **Figure 2A**). In addition, Ser25 ( $P=0.006$ ; HR=1.651, 95% CI: 1.018-2.676) and Ser38 ( $P=0.001$ ; HR=2.241, 95% CI: 1.383-3.629) phosphorylation strongly correlated with shorter DFS (**Figure 2C and 2D**). In contrast, Ser16 ( $P=0.001$ ; HR=0.436, 95% CI: 0.265-0.717) and Ser63 ( $P=0.0005$ ; HR=0.435, 95% CI: 0.269-0.703) phosphorylation correlated with longer DFS (**Figure 2B and 2E**).

Figure 2



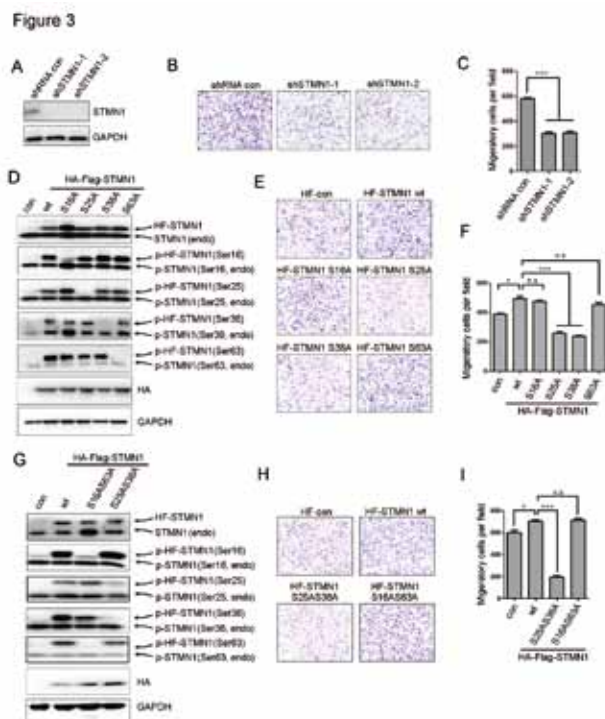
**Figure 2.** Evaluation of associations between STMN1 and its multiple phosphorylation sites and clinical outcomes for breast cancer patients

## Specific STMN1 phosphorylation patterns correlate with breast cancer cell migration ability

To determine whether STMN1 was required for cell migration, we established MDA-MB-231 cells with shRNA against STMN1 to suppress endogenous STMN1 expression (**Figure 3A**). Migration assays showed that decreased STMN1 expression led to a 50% decrease in the number of migratory cells per field ( $P<0.01$ ) (**Figure 3B and 3C**).

We then investigated the role of each serine residue in promoting cell migration. We generated stable MDA-MB-231 cells lines overexpressing wild-type STMN1 and singly alanine-substituted STMN1 mutants (S16A, S25A, S38A, and S63A) (Figure 3D). Overexpression of wild type STMN1 or S16A and S63A mutant proteins resulted in increased cell migration, whereas S25A and S38A mutant protein overexpression suppressed migration ( $P<0.01$ ) (Figure 3E and 3F).

We subsequently generated doubly alanine-substituted STMN1 mutants (S16A/S63A, S25A/S38A) (Figure 3G). Compared to the control, wild type and S16A/S63A double mutant proteins increased cell migration, whereas the S25A/S38A double mutant protein suppressed migration ( $P<0.01$ ) (Figure 3H and 3I). Our results indicate that STMN1 phosphorylation at Ser25/Ser38 is required for promoting breast cancer cell migration.

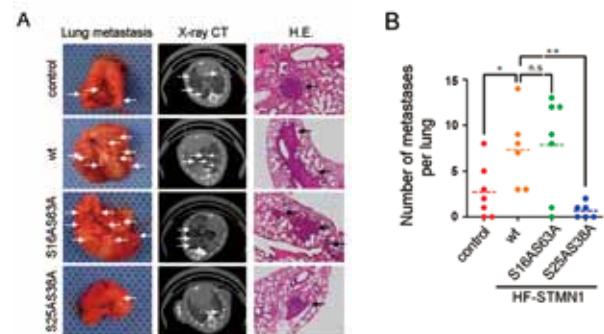


**Figure 3** The various roles of STMN1 expression and its multiple phosphorylation sites in cell migration

**Confirm the relationship between STMN1 phosphorylation and cancer metastasis through in vitro and in vivo approaches.**

To further investigate the phosphorylation states of STMN1 in promoting breast cancer cell metastasis, we injected MDA-MB-231 cells overexpressing wild-type,

S16A/S63A, or S25A/S38A double mutant STMN1 into nude mice ( $n=8$  for each group) (Figure 4A). Less than 20% of the hosts in the S25A/S38A group developed metastasis compared to mice in the wild type control, as demonstrated by CT and H&E staining (Figure 4B).



**Figure 4** STMN1 dephosphorylation at Ser-25 and Ser-38 suppresses lung metastasis *in vivo*

### Prospects

we showed that STMN1 expression and phosphorylation at multiple serine residues plus clinicopathological characteristics have significant predictive value for breast cancer-associated disease events including recurrence. This model could improve the identification and course prediction of breast cancer patients at the time of primary diagnosis and has significant prognostic value at the time of primary diagnosis, thereby enabling oncologists to target patients who are likely to relapse or experience metastasis for more aggressive treatment.

### Presented papers:

1. Xu SG, Yan PJ, Shao ZM. Differential proteomic analysis of a highly metastatic variant of human breast cancer cells using two-dimensional differential gel electrophoresis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010; 136: 1545-1556.
2. Jeon TY, Han ME, Lee YW et al. Overexpression of stathmin1 in the diffuse type of gastric cancer and its roles in proliferation and migration of gastric cancer cells. *Br J Cancer* 2010; 102: 710-718.
3. Zheng P, Liu YX, Chen L et al. Stathmin, a new target of PRL-3 identified by proteomic methods, plays a key role in progression and metastasis of colorectal cancer. *J Proteome Res* 2010; 9: 4897-4905.

4. Trovik J, Wik E, Stefansson IM et al. Stathmin overexpression identifies high-risk patients and lymph node metastasis in endometrial cancer. Clin Cancer Res 2011; 17: 3368-3377.
5. Belletti B, Baldassarre G. Stathmin: a protein with many tasks. New biomarker and potential target in cancer. Expert Opin Ther Targets 2011; 15: 1249-1266.
6. Kuang XY, Chen L, Zhang ZJ et al. Stathmin and phospho-stathmin protein signature is associated with survival outcomes of breast cancer patients. Oncotarget 2015.

**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。当該細胞株を神経細胞へと分化誘導し、その過程を生きた細胞内の GFP 局在を捉えるための条件検討を行った。

今後、本細胞株が神経細胞へと分化する過程で、DSB が細胞核変形に伴って導入されるか否かを検討する。

**発表論文**

特になし



## 重1-40

## 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：吉村 優一

(広島大学理学研究科：助教)

栢尾 尚也

(広島大学理学研究科：特任講師)

川崎 亮祐

(広島大学理学研究科：D 1)

中嶋 直大

(広島大学理学研究科：M 2)

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 $\gamma$  は基質依存的にリクルートする転写共役因子を変化させる。転写共役因子の PPAR $\gamma$  結合部位は LxxLL モチーフという保存性の高い配列を共通に持っているが、PPAR $\gamma$  が基質依存的にどのようにしてこの保存配列を見分ける分子機構については理解されていない。機構が明らかになれば、糖尿病治療薬開発の標的タンパク質としての PPAR $\gamma$  がリクルートする転写共役因子を制御するための基質デザインが可能となる。従来までの PPAR $\gamma$  の基質は、アゴニスト・アンタゴニスト・パーシャルアゴニストとして分類されるが、転写共役因子選別制御まで可能とする化合物デザインは例がない。本研究の成果は、新たな PPAR $\gamma$  機能制御を機作とする創薬を可能とする。

本年度の研究では、TR-FRET と NMR を用いて、転写共役因子の天然変性部位が過渡的に形成する 6 種類の転写共役因子 (SRC1A, SRC1B, SRC2A, SRC2C, CBP-A, CBP-B) の低存在率構造と PPAR $\gamma$  (Rosiglitazone 結合状態) への結合能の相関を系統的に解析した。

その結果、LxxLL モチーフ部のヘリックス存在率 (2 - 20% の範囲で分布する) が高くなるほど PPAR $\gamma$  への結合が強くなるというきれいな相関を見いだした。このことから 1) 転写共役因子中の PPAR $\gamma$  結合部位が過渡的に形成するヘリックス構造が PPAR $\gamma$  への結合を制御するという動的構造による機能制御機構の存在が明らかになると同時に、2) LxxLL 認識モチーフ周辺のアミノ酸配列に

よる過渡的構造制御が PPAR $\gamma$  による転写共役因子のリクルートに関わることが明らかになった。

今後は、多様な基質化合物を使って PPAR $\gamma$  の構造変化と転写共役因子への結合能の変化およびその際の転写共役因子の低存在率構造との相関を明らかにする。

## 発表論文

1. Saito, M., Hiratoko, S., Fukuba, I., Tate, S., and Matsuoka, H., "Use of a right triable chip and its engraved shape as a transferrable x-y coordinate system from light microscopy to electron microscopy" *Electrochemistry*, 86, 6-9 (2018).
2. Umehara, K., Hoshikawa, M., Tocho, N., and Tate, S., "Substrate binding switches the conformation at the lychpin site in the substrate-binding domain of human Hsp70 to enable allosteric interdomain communication" *Molecules*, 23, 528 (2018).
3. Tate, S., "Protein structure and dynamics determination by residual anisotropic spin interactions" *Experimental Approaches of NMR Spectroscopy* (The Nuclear Magnetic Resonance Society of Japan Ed.), Springer (2018).
4. Wang, J., Kawasaki, R., Uewaki, J., Rashid, A. U. R., Tochio, N., and Tate, S., "Dynamic allostery modulates catalytic activity by modifying hydrogen bonding network in the catalytic site of human Pin1" *Molecules*, 22, 992 (2017).
5. Yoshimura, Y., Oktaviani, N. A., Yonezawa, K., Kamikubo, H., and Mulder, F. A. A., "Unambiguous determination of protein arginine ionization states in solution by NMR spectroscopy" *Angew. Chem. Int. Ed.*, 56, 239-242 (2017).
6. Nakamura, A., Tochio, N., Fujio, S., Ito, S., Kigawa, T., Shimada, Y., Matsuoka, M., Yoshida, S., Kinoshita, T., Asami, T., Seto, H., "Molecular actions of two synthetic brassinosteroids, iso-carbaBL and 6-deoxoBL, which cause altered physiological activities between Arabidopsis and rice" *PLoS One*, 12, e0174015 (2017).
7. Makino, A., Abe, M., Ishitsuka, R., Murata, M., Kishimoto, T., Sakai, S., Hullin-Matuda, F., Shimada, Y., Inaba, T., Miyatake, H., Tanaka, H., Kurahashi, A., Pack, C. G., Ksai, 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., “A novel sphingomyelin/cholesterol domain-specific probe reveals the dynamics of the membrane domains during virus release and in Niemann-Pick type C” *FASEB J.*, 31, 1301-1322 (2017).

8. Eguchi,Y., Okajima,T., Tochio,N., Inukai,Y., Shimizu,R., Ueda,S., Shinya,S., Kigawa,T., Fukamizo,T., Igarashi,M., and Utsumi,R., “Angucycline antibiotic waldiomycin recognizes common structural motif conserved in bacterial histidine kinases” *The Journal of Antibiotics*, 70, 251-258 (2017).
9. 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., “Solution structure of the first RNA recognition motif domain of human spliceosomal protein SF3b49 and its mode of interaction with a SF3b145 fragment” *Protein Sci.*, 26, 280-291 (2017).
10. Hiraishi,N., Maruno,T., Tochio,N., Sono,R., Otuki,M., Takatsuka,T., Tagami,J., and Kobayashi,Y., “Hesperidin interaction to collagen detected by physico-chemical techniques” *Dental materials*, 33, 33-42 (2017).
11. Oktaviani,N.A., Pool,T.J., Yoshimura,Y., Kamikubo,H., Scheek,R.M., Kataoka,M., Mulder,F.A.A., “Active-site Pka Determination for photoactive yellow protein rationalizes slow ground-state recovery” *Biophys. J.*, 112, 2109-2116 (2017).
12. 楯 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* 57, 127-130 (2017).

## 重1-41

### コリン欠乏食による遺伝子発現、およびゲノムメチル化に与える影響

#### 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

choline はリン脂質や acetylcholine の生合成やメチル基供与体として極めて重要な栄養素であり、choline 欠乏によって脂肪性肝炎 (NAFLD) を誘導するとされている。本研究では、choline 欠乏食による NAFLD 発症のメカニズムを解明するために、肝臓中 choline 代謝物濃度、および遺伝子発現応答を解析した。6 週齢雄性 ICR マウスに、choline 欠乏食 (F2CDD, オリエンタル酵母工業) を摂取させた欠乏食群 (D 群)、酒石酸コリンを 0.2% 添加した choline 添加食を摂取させたコントロール食群 (C 群) として飼育を行った (n= 5~7)。飼育開始 1 週間後、および 3 週間後に、血中の ALT 値を測定し、さらに choline 代謝物を LC/MS 法により解析した。また、肝臓より total RNA を調製し、DNA microarray 法 (Agilent 社) により遺伝子発現解析を行った。1 週間、3 週間後、ともに欠乏食群 (D 群) において血清中の choline、betaine、および肝臓中の choline, betaine, glycerophosphocholine (GPC), phosphatidylcholine (PC), lysophosphatidylcholine (LPC) の濃度が減少していた。血清 ALT 値は、既に 1 週間後において有意に D 群で上昇しており、血清トリグリセリド値、および総コレステロール値は D 群で有意に減少していた。DNA microarray 解析の結果、choline 欠乏食群で有意に発現が上昇した肝臓由来遺伝子は、3 週間後で 348 個存在し、その中で 228 個は 1 週間後においても発現量は増加していた。さらに、real-time PCR 解析を行った結果、脂肪酸代謝関連遺伝子 Evovl2 や Fads2、PPAR- $\gamma$ 、また interferon 誘導性の遺伝子群や、トランスポーター遺伝子である SLC15a3 などの様々な遺伝子発現の上昇を確認した。今後は、発現量の変化した遺伝子群をさらにグループ化することにより、NAFLD の病態との関連性を明らかにし、ゲノムメチル化に関する検証を行う予定である。

#### 発表論文

Nakamura M, Kumrungsee T, Sakuma T, Yamamoto

T, Yanaka N. TALEN-mediated targeted editing of the GDE5 gene suppresses fibroblastic cell proliferation. Biosci. Biotechnol. Biochem. 2017, 81:2164-2167.

Suidasari S, Uragami S, Yanaka N, Kato N. Dietary vitamin B6 modulates the gene expression of myokines, Nrf2-related factors, myogenin and HSP60 in the skeletal muscle of rats. Exp. Ther. Med. 2017, 14:3239-3246.

Mitsumoto K, Watanabe R, Nakao K, Yonenaka H, Hashimoto T, Kato N, Kumrungsee T, Yanaka N. Time-course microarrays reveal early activation of the immune transcriptome in a choline-deficient mouse model of liver injury. Life Sci. 2017, 184:103-111.

## 重2-1

### 造血器悪性腫瘍の発症・進展に関するゲノム・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：准教授)

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)

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、骨髓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。昨年度に引き続き今年度も、*DDX41* 遺伝子変異と造血器腫瘍との関連に主眼を置いた詳細な解析を行い、主な共同研究実施内容は次の二点である。(1) *Ddx41* 遺伝子改変マウスの作成：主に広島大学で実施し、作成は終了した。今後、個体および細胞レベルの検討に着手する予定である。(2) リボソームプロファイリングによる翻訳変化の解析：熊本大学でライブラリー作成を実施し、広島大学の次世代シーケンサーでデータ取得を実施した。

次年度以降も共同研究を継続し、本遺伝子変異がもたらすと予想される翻訳調節障害の全容を明らかにすることを目指す。

#### 発表論文

1. Shinriki S, Jono H, Maeshiro M, Nakamura T, Guo J, Li JD, Ueda M, Yoshida R, Shinohara M, Nakayama H, Matsui H, Ando Y. Loss of CYLD promotes cell invasion via ALK5 stabilization in oral squamous cell carcinoma. *J Pathol.* (in press)
2. Matsui H. Editorial: Familial predisposition of myeloid malignancies: biological and clinical significance of recurrent germ line mutations. *Int J Hematol* 106(2): 160-162, 2017
3. 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.

## 重2-2

### 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：中田 雄一郎

(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

NF-1 様症候群の原因遺伝子として知られる 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。本共同研究の目的は、慢性骨髄性白血病の進展・悪性化における BCR/ABL 陽性造血幹細胞での Spred-1 不活化の関与について明らかにすることを目的としている。

我々はこれまでに、Spred-1 欠損造血幹細胞では Rho キナーゼ (ROCK) 活性が高く、その ROCK 活性に依存して造血幹細胞の自己複製能が亢進することを示してきた。今年度は、BCR-ABL による慢性骨髄性白血病発症機序において ROCK 活性化の関与を調べるために、BCR-ABL トランスジェニックマウスを用いて ROCK 活性化レベルについて解析を行った。BCR-ABL 陽性トランスジェニックマウスおよびコントロールとして野生型マウスから造血幹細胞／前駆細胞を多く含む CD48-KSL 細胞を採取し、ROCK の基質である MYPT1 のリン酸化状態をウエスタンブロッティングにより調べた。その結果、BCR-ABL 陽性造血幹細胞画分では BCR-ABL 陰性造血幹細胞画分に比べて ROCK 活性が亢進していることが明らかとなった。今後、この ROCK 活性の亢進が Spred1 の発現変化によるものなのか、また慢性骨髄性白血病の発症・進展における ROCK 活性の抑制効果について阻害剤等を用いて検証する必要がある。

#### 発表論文

なし

## 重2-3

### 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

放射線やがん遺伝子過剰発現などによって生じる様々な DNA 修復経路活性化と、遺伝的不安定性や複製異常の関連については十分に明らかにされていない。本共同研究では、様々な DNA 修復経路の中でも、特にヒトにおける誤りがち修復経路の選択機序については不明な点が多いので、この修復経路を詳細に解析することで、がん細胞特異的な未知の特性を明らかにすることを目指している。

申請者は、がんを好発するロスムンド・トムソン症候群の関連遺伝子 RECQL4 ノックイン HCT116 細胞において、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を見出したが、今年度は、異なる幾つかの RECQL4 ノックインがん細胞においても、同様の結果が得ることができた。また、様々な GFP レポーターアッセイを用いて、他の修復経路との関係性について明らかにした。重要なことに、RECQL4 ノックイン非がん MCF10A 細胞ではこの誤りがち修復経路活性化の特徴がみられなかったので、がん細胞特異的な誤りがち修復経路選択機序であることが示唆された。さらにこの表現型が、in vitro ヒト培養細胞実験から、in vivo マウス実験まで共通の特性であることを確認した成果を得ているので、これらの本共同研究の成果について論文作成を進めている。

今後は、ヒトにおける機能がほとんど分かっていない他の誤りがち修復経路を含めた修復経路選択機序についても明らかにする予定である。

#### 発表論文

なし

## 重2-4

## 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：学部生)

宇陀 紗奈子

(昭和薬科大学：学部生)

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、ビ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のかどうかに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2-5

## 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：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るわけではない。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 (mCherry) 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、重粒子線 (炭素線：290MeV/u, LET:14Kev/um) を 1 Gy 照射後の DNA 損傷因子の局在変化を免疫染色法によって解析した。放射線照射後、1 時間、2 時間、4 時間、8 時間にそれぞれ細胞を固定し、内在性 DNA 損傷応答因子である  $\gamma$ -H2AX に対する免疫染色を行い、mCherry-53BP1 のフォーカスとの共局在を検討した。その結果、いずれのタイムポイントにおいても、 $\gamma$ -H2AX フォーカスと mCherry-53BP1 のフォーカスの共局在が確認され、用いた細胞の 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。また、これまでの報告通り、重粒子線照射 8 時間後の細胞においても、X 線と比較して高いレベルの  $\gamma$ -H2AX フォーカスおよび mCherry-53BP1 フォーカスが検出された。今後は、X 線及び重粒子線照射後の BJ1-53BP1-2 細胞における mCherry-53BP1 の挙動をリアルタイムイメージングを用いて比較することで、重粒子によって誘発された DNA 損傷の修復動態がより明確に解析できると期待できる。

## 発表論文

## 重2-6

## 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

(東北大学災害復興新生研究機構：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

放射線反復照射に対する耐性獲得メカニズムを解明するなかで、本年度は反復照射耐性細胞とその親細胞でDNA二重鎖切断に起因するフォーカス形成を比較した。正常ヒト二倍体不死化細胞 RPE1-hTERT 細胞は、1日1.5 Gyの反復照射を30回繰り返す間に全ての細胞が分裂増殖能を失って老化様増殖停止による細胞死が誘導されるが、昨年度樹立した2群の反復照射耐性獲得細胞(1.5R-1、1.5R-3細胞)はそれぞれ、1.5 Gyの反復照射を100回以上繰り返した後も分裂増殖できる、親細胞にはない反復照射耐性が付与された細胞である。本年度は反復照射を止めて1ヶ月以上培養した後の1.5R細胞を用いた。まず、5 Gyの単回照射に対して反復照射停止後の1.5R細胞が親細胞よりも放射線抵抗性を示すことを確認した。次に、リン酸化H2AXと53BP1が共局在するフォーカスについて検討したところ、非照射時の1.5R-3細胞の約8割でフォーカスが親細胞よりも有意に多く検出された。フォーカスを形成しながら分裂増殖していることから、DNA二重鎖切断認識機構は活性化するものの、チェックポイント機構活性化に至る経路の中に破綻が生じている可能性が示唆された。また、非照射時の1.5R-1細胞ではフォーカス陽性細胞が親細胞と比べて1割程度の増加であったが、1.5 Gyの単回照射後24時間の時点でフォーカスを評価すると、共局在部位におけるリン酸化H2AXフォーカスの蛍光強度が親細胞と比べて減少している細胞が検出された。このため、1.5R-1の耐性獲得にはH2AXのリン酸化に関与するATMの機能あるいは持続的な活性化が抑制されている可能性が考えられた。このように耐性細胞群間で異なる特徴が観察された一方で、1.5 Gy照射30分後のフォーカスは親細胞と比べて微小な形態を示し、定量可能なフォーカス数が減少する傾向が共通して観察された。放射線照射後初期のフォーカス数が親細胞よりも少なかったために、両耐性細胞で24時間後に生存するフォーカス数も少なかった。以上の結果から、樹立した耐性細胞ではDNA損傷シグナル

が親細胞よりも減弱している共通した特徴に加えて、耐性細胞群固有の変化が複合的に作用して、反復照射耐性が付与されている可能性が考えられた。

## 発表論文

なし



## 重2-7

## 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

(国立研究開発法人量子科学技術研究開発  
機構 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については、特に子どもへの影響が懸念される。これまで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って肝がんリスクが増加すること、成体期からのカロリー制限によって肝がんが抑制されることを報告した。また、これまで受入研究者との共同研究で、被ばく後の肝臓細胞の挙動、特に損傷細胞排除機構の年齢依存性について明らかにしつつある。しかし、前がん病変の増殖活性や、発生した肝がんの分子生物学的特徴、特に原因遺伝子変異は不明である。本研究では、これまでの共同研究を発展させ、放射線誘発肝がん発生機構とカロリー制限の肝がん抑制機構の解明にアプローチする。H29年度は前年度に継続して、主に肝がんの遺伝子変異スペクトラム解析を行った。これまでに放射線誘発肝がんの原因遺伝子は全く解明されていない。本研究は初めて放射線誘発肝がんの遺伝子変異スペクトラムの解析を試みて、肝がんサンプルで頻度の高い変異を確認した。今後は解析サンプルをさらに増やして、放射線が肝がん発生への寄与をより明確にする。これらの知見は、放射線発がん機構の解明のみならず、カロリー制限による放射線発がん予防の機構への理解、応用に繋がる。

## 発表論文

なし

## 重2-8

## 放射線誘発肝がん発症メカニズムの解明

## 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：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については、特に子どもへの影響が懸念される。これまで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って肝がんリスクが増加すること、成体期からのカロリー制限によって肝がんが抑制されることを報告した。また、これまで受入研究者との共同研究で、被ばく後の肝細胞の挙動、特に損傷細胞排除機構の年齢依存性について明らかにしつつある。しかし、前がん病変の増殖活性や、脂肪性肝障害との関わりは不明である。本研究では、これまでの共同研究を発展させ、放射線誘発肝がん発生機構の解明を目的とした。

放射線照射と高脂肪餌投与後のマウスより採取された肝組織サンプルを用いて、脂肪性肝傷害と初期病変の病理組織学的解析を行った。

病理組織解析より、放射線と高脂肪餌の複合暴露は肝臓への脂質沈着を促進すると共に脂肪炎を惹起させることが分かった。今後、免疫組織化学的染色等を行い肝発がんの機構解明を進める予定である。

## 発表論文

なし



## 重2-9

## 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)

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)

フェカドゥ シンタク

(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導入し、ウイルス複製を障害する。このヒト細胞のウイルス感染防御機構は、レトロウイルスで発見されたが、持続感染する EB ウイルスではウイルスの排除よりも、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考えられる。そこで、ウイルス持続感染によるゲノム障害と発がん放射線障害による発がんの共通メカニズムと相違点を詳細にする。

我々はEB ウイルス感染が、APOBEC 遺伝子群を誘導し、宿主ミトコンドリアのゲノムに変異を導入することを発見した。種々の APOBEC 遺伝子群の発現プラスミドを用いて、APOBEC3C がミトコンドリアゲノムに変異を導入することを明らかにした。CRISPR 法を用いて APOBEC3C 遺伝子を破壊した細胞は、EB ウイルス感染によるミトコンドリア障害が減少した。ミトコンドリア障害は、ATP 産生の低下と活性酸素産生が増加を導いた。

今後は、EB ウイルス感染細胞由来のミトコンドリア変異体を非感染細胞へ移植し、ミトコンドリア機能変化の意義を調べる。また、APOBEC3 は、様々な種類毎の抗 APOBEC3 抗体を用いて ChIP-Seq を行い、標的遺伝子を同定する。

## 発表論文

- ① Nishikawa J, Iizasa H, Yoshiyama H, Nakamura M, Saito M, Sasaki S, Shimokuri K, Yanagihara M, Sakai K, Suehiro Y, Yamasaki T, Sakaida I. The role of epigenetic regulation in Epstein-Barr Virus-associated gastric cancer. *International Journal of Molecular Sciences* 18, 1606, 2017.
- ② Kim H, Iizasa H, Kanehiro Y, Fekadu S, Yoshiyama H. Herpesviral microRNAs in cellular metabolism and immune responses. *Frontiers in Microbiology*, 2017(8): 1318.
- ③ Yu F, Lu Y, Tao L, Jiang YY, Lin DC, Wang L, Petersson F, Yoshiyama H, Koeffler HP, Goh BC, Loh S. Non-malignant nasopharyngeal epithelial cells preferentially proliferate from NPC biopsies cultured under conditionally reprogrammed conditions. *Scientific Reports*, 2017(7): 17359.

## 重2-10

***Comparative study of the relationship between oxyphilic cell metaplasia, BRAFV600E mutation, and postoperative prognosis in radiogenic and sporadic Ukrainian papillary thyroid carcinomas in different age groups***

**Research Organization:**

Representative Joint Researcher: Liudmyla Zurnadzhly (Senior Researcher: Laboratory of Morphology of Endocrine system, Institute of Endocrinology and Metabolism, Kiev, Ukraine)

Joint Researcher: Tetiana Bogdanova (Head of the Laboratory of Morphology of Endocrine system: Institute of Endocrinology and Metabolism, Kiev, Ukraine)

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

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

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

**Contents, Results, and Prospects of Study**

During the research period we collected 528 paraffin blocks of Ukrainian PTCs from 489 patients, who were exposed to the Chernobyl <sup>131</sup>I fallouts and patients with sporadic PTC (not exposed to radiation).

We formatted age-matched groups of patients with radiogenic and sporadic PTC, and collected the following information: demographic data; detailed pathological description including the assessment of oxyphilic cell metaplasia; radioiodine treatment data (cumulative dose; treatment outcome); clinical follow-up data (the duration of follow-up, disease recurrence).

Immunohistochemical staining for BRAFV600E was performed for all cases. This is the first large-scale study of this kind in age-matched groups of patients with radiation-related and sporadic thyroid cancer from the same geographic area.

Further planning includes immunostaining for Ki-67 using paraffin sections from the same tumors. Upon

the accomplishment of immunostaining, all data will be combined in an electronic spreadsheet suitable for statistical calculations. We will evaluate, using univariate analysis and multivariate regression models, the correlation between BRAFV600E mutation and oxyphilic changes and Ki-67 positivity, making comparison between age-matched patients with radiogenic and sporadic thyroid cancer in order to determine clinicopathological characteristics associating with tumor etiology. In addition, we will perform survival analysis to reveal the predictors of recurrence, especially in cases of radioiodine-refractory metastases in patients who were children and adolescents at the time of the Chernobyl accident and those not exposed to radiation.

## 重2-11

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。しかしながら、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の確立を目指した。具体的には、マウスより採取した肺および肝臓を細切し、コナゲナーゼ処理後に単離した細胞の培養を開始した。その際、上皮細胞の増殖を促すため、数種類の上皮細胞培養培地を用いて細胞増殖の検討を行い、染色体サンプルを作成した。また、肺および肝臓細胞と骨髓細胞との共培養を行い、肺および肝臓細胞単独での培養の際との比較を行った。その結果、肺および肝臓由来細胞の増殖に適した培地は、肺細胞ではBEGM Bronchial Epithelial Cell Growth Medium (Lonza, CC-4175)、肝細胞ではHepatocyte Culture Medium (Cosmo Bio, HPCM-500)であった。また、セルカルチャーインサート (Falcon, 0.4 $\mu$ m, #353090) を用いて骨髓細胞との共培養を行ったところ、肺細胞および肝細胞の細胞増殖が促進することが明らかとなった。以上の成果は *In Vitro Cell Dev. Bio.-Animal* 誌に掲載された。

増殖してくる細胞には、上皮の細胞と共に、線維芽細胞などの間葉系細胞が混在している。今後、上皮細胞および線維芽細胞の識別を可能にする技術を開発する。

## 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*, 53, 474-478, 2017.

## 重2-12

*Molecular mechanisms of progression of radioactive iodine-refractory thyroid cancer: implication of mutational profile into treatment outcome and prognosis*

## Research Organization:

Representative Joint Researcher: Pavel Rumiantsev (Head of the Department of Radionuclide Diagnostics and Therapy (Nuclear Medicine); Endocrine Research Center, Moscow, Russia)

Joint Researcher: Alexander Abrosimov (Head of the Department of Fundamental Pathomorphology; Endocrine Research Center, Moscow, Russia)

Joint Researcher: Kseniya Nijegorodova (Researcher: Department of Radionuclide Diagnostics and Therapy (Nuclear Medicine), Endocrine Research Center, Moscow, Russia)

Joint Researcher: Konstantin Slaschuk (Researcher: Department of Radionuclide Diagnostics and Therapy (Nuclear Medicine), Endocrine Research Center, Moscow, Russia)

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

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

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

## Contents, Results, and Prospects of Study

Formalin-fixed paraffin-embedded tumor tissues from 74 PTC patients (18 males and 56 females aged from 9 to 80 yrs. at the time of operation) were stained using anti-BRAF<sup>V600E</sup> mouse monoclonal antibody. We observed BRAF-positive staining (BRAF+) in 29/74 (39.2%) cases. On univariate analysis, the BRAF+ subgroup was characterized by a higher proportion of males (37.9 vs 15.5%,  $p=0.050$ ), older mean age (39.3 vs 28.4 yrs.,  $p=0.005$ ), advanced clinical stages (37.9 vs 13.3%,  $p=0.023$ ), dominant papillary growth pattern (65.5 vs 35.5%,  $p=0.017$ ) and a higher rate of relapses (62.1 vs 33.3%,  $p=0.018$ ). Using multivariate proportional hazard models, we found that the BRAF mutation (HR=2.3,  $p=0.025$ ) and the presence

of tumor capsule (HR=0.2, p=0.042) were independent predictors of tumor relapse regardless of the volume of surgical intervention. We conclude that *BRAF* mutation is an important risk factor for tumor relapse, at least in patients of Caucasian origin.

### Presented papers

Poster presentation on The 2<sup>nd</sup> International Symposium of the Network-type Joint Usage/Research Center for Radiation Disaster Medical Science, February 3-4, 2018, Ryojun Hall, Nagasaki University, Nagasaki

Immunohistochemical analysis of BRAF mutational status in the papillary thyroid carcinoma with special reference to recurrent tumors. Abrosimov A, Rogounovitch T, Sidorin A, Rumiantsev P, Isaev P, Nizhegorodova K, Shinkarkina A, Yamashita S, Saenko V.

### 重2-13

### 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 放射線障害治療研究部：主任研究員)

共同研究者：東 梨佳子

(量研機構放医研 放射線障害治療研究部：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

長年にわたる研究の成果により日々発展しているがん治療であるが、放射線治療に限らずすべてのがん治療において遠隔転移の克服や個体レベルでの治療効果のばらつきの制御は未だ重要な問題である。我々は炭素イオンを用いた重粒子線治療の基礎研究として、主にマウスモデルを利用した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、有害事象の発生機序に関する研究を進めてきた。これまでの研究では、照射による細胞応答について代表的な遺伝子だけを対象とした発現解析を行い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不十分であった。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放射線や免疫応答による変化の全体像を明らかにすることを目的としている。

これまで、本共同利用・共同研究の枠組みを利用して、樹立した高転移株や放射線抵抗性株における遺伝子発現プロファイル解析を進め、高転移性の原因となる遺伝子候補ならびに放射線抵抗性獲得のキーとなるシグナル伝達系候補の抽出に成功している。現在、両細胞株に関しては、得られた候補遺伝子の関与について詳細な解析を進め、その成果については学会にてすでに発表をしている。更に昨年度は、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。本解析結果は、現在real-time qPCR法などを用いてその再現性の確認と治療効果との関連について研究を進めている。

H29年度は、胸部照射による正常組織での放射線応答に

ついて、網羅的遺伝子発現解析を実施中であり、報告書提出時点ではまだ結果を得られていない。本解析では、細胞死に基づいたRBEとは異なる指標による正常組織へ炭素イオン線の影響評価を目指して、その指標となるマーカーの探索を目的としている。最終的には、我々自身の先行実験に基づき利用している遺伝子マーカーより効果的な新規マーカーの取得とそれによる重粒子線の生物効果の再評価を行う予定である。

今後は、まずは現在解析中の遺伝子発現プロファイルの結果を待ち、その結果に基づき現行の研究を進展させる予定である。加えて、現在までは諸事情により限られたサンプル数での解析しか行えず、一連の放射線応答に対して断片的な情報しか得られていなかったが、これまでの解析結果を反映して進めた実験により、各サンプル間のギャップを不十分ではあるが埋めることができ、本研究目的を達成するために今後解析が必要な追加サンプルの存在も明らかになってきた。それらの遺伝子プロファイル解析を進めることにより、目的とする全体像の解明を目指す。

#### 発表論文

なし

#### 重2-14

### 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:上席研究員)

共同研究者：野口 美穂

(量子科学技術研究開発機構:主幹研究員)

藤井 健太郎

(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

放射線被ばくが、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。本研究では放射線誘発ゲノム不安定性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部位をまず特定し、そ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系の構築を試みている。放射線によりX染色体上のHPRT遺伝子部位に大規模な欠失があると推定されるヒト突然変異細胞を試料として用い、その領域にあるSTSマーカー及び新たに設定したプライマーを用いたゲノムDNAに対してRT-PCR解析を実施した。その結果、当初の予想とは異なり広範囲な欠失部位(数Mbp)中でまだ配列が残っている部分が存在し、数10～数100Kbpの断片の集合であることを明らかにした(図1)。

今後は欠失部位にを持つゲノム領域周辺のエピジェネティック修飾を同定するために、酵素処理により断片化したクロマチンDNAに対してChIPアッセイを行い、特にヒストンの化学修飾を同定する実験を実施する予定である。

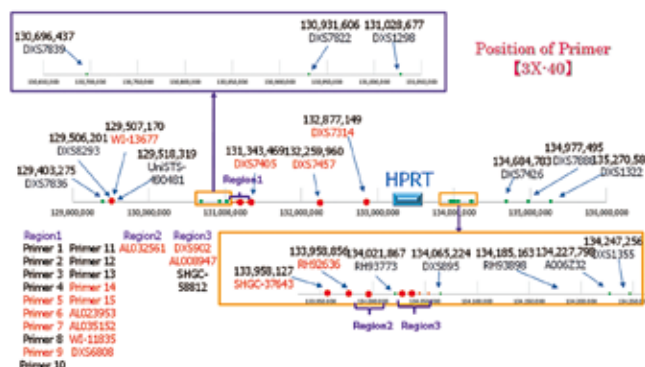


図1 HPRT 部位欠損突然変異細胞(3X-40)に対するRT-PCRによる欠失部位領域の確認  
赤丸は、STSマーカーあるいは設定したプライマーに対して増幅を示さず欠失が確認された部位を示す。



## 発表論文

上記データを論文として準備中。

2018年2月28日に、長崎大学原研研究会にて招待講演を行い成果を発表した。

## 重2-15

## 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。本研究では、放射線によって誘発される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、DSBマーカーと染色体を共染色することにより、染色体テリトリーと放射線誘発 DSB の相関性解析を行う。本研究の達成は、染色体転座発生メカニズムを理解する一つの重要な知見となりうる。

申請者は受入れ研究者である山内基弘助教と共同することにより、重粒子線照射は染色体テリトリーの境界領域に DSB を誘発し、それらは染色体転座のリスクファクターになり得る可能性を示した。上記共同研究で得られた知見をさらに発展させるべく、本研究では重粒子線特異的な DSB の形状を、超高解像度顕微鏡によって解析する。昨年度までの共同研究により、放射線照射後の転座発生過程の中で、染色体分布に対しての DNA 損傷発生部位の影響が明らかになった。粒子線は軌道に沿って DNA 損傷を起こすため、異なる染色体間にまたがる DNA 損傷を生じやすい。本年度は、超高解像度顕微鏡 3D-OMX を用いて、重粒子線照射後の gH2AX の形状を解析した。その結果、重粒子線照射後の gH2AX は X 線の約 4 倍の体積を有すること、また gH2AX シグナル領域内には複数の RPA foci が局在することを発見した。また個々の RPA foci の間隔は約 700 nm であることを見出した。これらの結果は、重粒子線照射は 1 マイクロメートルの領域内に複数の DSB を誘発することを示唆している (Hagiwara et al., Oncotarget, 2017)。本研究の達成により、粒子線照射により生じる転座メカニズムの原因の一つが明確化されることが考えられる。

## 発表論文

1. Hiro Sato, Atsuko Niimi, Takaaki Yasuhara, Tiara Bunga Mayang Permata, Yoshihiko Hagiwara, Mayu



Isono, Endang Nuryadi, Ryota Sekine, Takahiro Oike, Sangeeta Kakoti, Yuya Yoshimoto, Kathryn D. Held, Yoshiyuki Suzuki, Koji Kono, Kiyoshi Miyagawa, Takashi Nakano and Atsushi Shibata\*. DNA double-strand break repair pathway regulates PD-L1 expression in cancer cells, Nature Communications, 8(1):1751, 2017. IF: 12.124, \*Corresponding author

2. Yoshihiko Hagiwara, Atsuko Niimi, Mayu Isono, Motohiro Yamauchi, Takaaki Yasuhara, Siripan Limsirichaikul, Takahiro Oike, Hiro Sato, Kathryn D. Held, Takashi Nakano and Atsushi Shibata\*. 3D-structured illumination microscopy reveals clustered DNA double-strand break formation in widespread  $\gamma$ H2AX foci after high LET heavy-ion particle radiation. Oncotarget, 8:109370-109381, 2017. \*Corresponding author

## 重2-16

### 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：中田 雄一郎

(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＞ 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（現東京女子医科大学）の本田浩章教授が作成した 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した。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（C $\gamma$ 1Cre マウス）と交配することにより、形質細胞特異的な Utx KO マウスを作製した。このマウスを用いて、形質細胞を詳細に観察した。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した。

＜研究成果＞ Utx の flox マウスと C $\gamma$ 1Cre 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。本マウスは特に BRAF V600E 変異マウスとの交配により、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。腫瘍細胞の RNA シークエンスによって腫瘍関連遺伝子の発現上昇が明らかに認められた。また腫瘍細胞の二次移植でも腫瘍の生着が確認された。

＜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詳細に行い、論文化する。

#### 発表論文

なし

## 重2-17

## 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：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

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、高転移性亜株の細胞増殖能及び細胞形態に影響する siRNA のスクリーニングによりこれまでに得られた一次ヒットについて *in vitro* で再評価するとともに、臨床サンプルの公開マイクロアレイデータ (Gene Expression Omnibus データ GSE43346 など) を解析した。その結果、w ヒットのうち二つのユビキチン化関連遺伝子が小細胞肺癌で高発現していることを見出した。今後は、これらの遺伝子が小細胞肺癌の治療標的となりうるか検証していく予定である。

## 発表論文

なし

## 重2-18

## 放射線応答性発現因子 MICA 発現の、DNA 修復因子による発現調節機構

## 研究組織

共同研究代表者：中島 葉花子

(量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所: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

MICA (Major histocompatibility complex class I Chain-related gene A) は、がん細胞に高発現する傾向がある膜貫通型蛋白であり、放射線被ばくによってさらに発現増加し、腫瘍免疫の活性化に寄与する。放射線治療において照射野外の転移巣が消失する“アブスコパル効果”と呼ばれる現象が古くから報告されているが、MICA はアブスコパル効果を引き起こす主要因子の一つと考えられている。我々は、放射線免疫併用療法の分子標的候補として MICA に着目している。本課題は、MICA の臨床応用のための基盤とするため、MICA の転写制御機構を明らかにすることを目的としている。本年度は、放射線に誘導される DNA 損傷応答シグナルの MICA 発現への影響を解析した。ヒト骨肉腫細胞株 U2OS の MICA 発現は放射線照射によって増加するが、DNA 損傷センサー因子 ATM および ATR 阻害剤処理された U2OS においては発現増加が抑制された。さらに下流のシグナル伝達経路因子を RNAi 干渉法と阻害剤処理により阻害した結果、Chk1 が MICA 転写調節に関与することを示唆する結果が得られた。次に、DNA 修復経路制御による Chk1 のリン酸化の増加および持続が MICA 発現に影響するかを検討した。非相同末端結合修復の主要因子 (Ligase IV, DNA-PKcs, XRCC5) および相同組み換え修復因子 (BRCA2) を RNAi 干渉法により阻害した U2OS では、全ての因子の発現阻害によって、Chk1 のリン酸化レベルが高まり、放射線応答性の MICA 発現が増加した。今後は、MICA の転写調節における Chk1 の分子機能の解析を進める。

## 発表論文

Nakajima NI, Niimi A, Isono M, Sato H, Oike T, Nakano, Shibata A, “Inhibition of HDAC/Suv39/G9a pathway restores DNA damage-dependent major histocompatibility complex class I-related chains A and B expression in cancer cells” *Oncology Reports*, 38, 693 - 702, 2017

## 重2-19

 **$^{90}\text{Y}$  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—**

## 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2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2年)

中山 智恵

(長崎大学医歯薬学総合研究科：博士前期課程1年)

尾上 遼太郎

(長崎大学薬学部：4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、前年度開発した標的蛋白へ高親和性を示すペプチド分子の代謝安定性向上を試み、環状ペプチドへと誘導し、親和性の維持されたペプチド分子の開発に成功した。また、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行い、担瘤マウスにおける体内放射能分布実験について、非標的ペプチドと比べて腫瘍への集積に差は見られなかったものの、腫瘍 / 血液比にて有意な差が見られた。今後はさらなる  $^{67/68}\text{Ga}$  標識分子プローブの開発と小動物 PET イメージング、さらには  $^{90}\text{Y}$  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、前年度開発したカチオン性両親媒性ペプチドである SVS-1 誘導体の  $^{67}\text{Ga}$  標識体の合成に成功した。 $^{67}\text{Ga}$  標識 SVS-1 は、正常細胞に比べてがん細胞に有意に高い取り込みを示したことから、腫瘍イメージング剤や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

Uehara W, Yoshida S, Emaya Y, Fuchigami T, Haratake M, Nakayama M. Selenoprotein L-inspired nano-vesicular peroxidase mimics based on amphiphilic diselenides. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2018, 162, 172-178.

## 重2-20

**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感法の確立をめざす。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、がん幹細胞様細胞マーカーである CD133 との関連性を免疫蛍光染色法によって調べ、共局在の可能性があることを確認した。

今後、HSP90 と CD133 との詳細な関わりや浸潤・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。

## 発表論文

本年度は、なし。

## 重2-21

**モデル生物を用いた Rad タンパク質の放射線発がん、修復機構における役割**

## 研究組織

共同研究代表者：宮本 昌明

(神戸大学研究基盤センター：准教授)

共同研究者：柏崎 隼

(神戸大学研究基盤センター：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

本研究は、モデル生物である分裂酵母を用いて生命現象の素過程を解明することを目的とした。低分子量 G タンパク質である Rab は細胞内の物質輸送の制御に関わり、細胞内のシグナル伝達において分子スイッチとして働く。我々は分裂酵母の Rab と相互作用し、シグナルを伝える細胞内因子を多数同定した。その中に、放射線の応答に関係すると考えられる Rad タンパク質が見出された。そこで Rab タンパク質と Rad タンパク質の細胞内における関係を調べるために、分裂酵母の Rad タンパク質をコードする遺伝子の破壊細胞を作製して、その表現型を解析した。その結果、同定した Rad タンパク質は Rab タンパク質が伝える細胞内シグナルを受けて働いていることが明らかとなった。このことから、物質輸送という一見、放射線の応答とは関連が推測できないタンパク質が介するシグナル伝達経路に 2 つのタンパク質が関係して働いているという研究成果が得られた。今後は、この 2 つのタンパク質の関係性について、さらなる詳細な分子機構について、解析をすすめていきたい。

## 発表論文

なし

## 重2-22

***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: Sviatlana Kupryian (Doctor: Department of Oncology, Minsk City Clinical Oncology Dispensary, Minsk, Belarus)

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

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

Joint Researcher: Uladzimir Karanik (Head of the Dispensary: Minsk City Clinical Oncology Dispensary, Minsk, Belarus)

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

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

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

**Contents, Results, and Prospects of Study**

A total of 113 PTC patients from Belarus exposed to radioactive Chernobyl fallout at the age 0-2 years old were enrolled. Immunohistochemical staining was performed using the primary monoclonal antibody against BRAF<sup>V600E</sup>. Positive cytoplasmic staining was observed in 47/113 (41.6%) of cases. The BRAF+ PTCs displayed significant associations with the presence of the following morphological features: tall cell variant ( $p=0.016$ ), dominant papillary growth pattern ( $p=0.002$ ) and multifocality ( $p=0.003$ ), and with the absence of the follicular tumor structure ( $p=0.016$ ), blood vessel invasion

( $p=0.040$ ) and less frequent multiple-round radioiodine treatment ( $p=0.025$ ). Our study demonstrates that BRAF+ does not confer higher tumor aggressiveness in young adults exposed to internal irradiation at a very young age.

**Presented papers**

Poster presentation on The 2<sup>nd</sup> International Symposium of the Network-type Joint Usage/Research Center for Radiation Disaster Medical Science, February 3-4, 2018, Ryojun Hall, Nagasaki University, Nagasaki Papillary thyroid carcinoma associated with post-Chernobyl exposure to radiation: a comparative analysis of clinical and morphological characteristics according to BRAF mutational status in young adults of Belarus. Frydman M, Rogounovitch T, Mankovskaya S, Yamashita S, Saenko.



**重2-23*****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)

Joint Researcher: Artur Pisarenka (Head of the Department of Head and Neck Surgery: Minsk City Clinical Oncology Dispensary, Minsk, Belarus)

Joint Researcher: Uladzimir Karanik (Head of the Minsk City Clinical Oncology Dispensary: Minsk, Belarus)

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

Resident Researcher: Tatiana Rogounovitch (Assistant Professor: Atomic Bomb 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 included 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 400 blood samples from patients, who lived in the contaminated after Chernobyl areas and were operated at the age of  $48.6 \pm 0.52$  year (additional 208 samples were collected during current research period). Data on 2251 individuals from Belarus, Russia and Poland were used as a control. We genotyped rs966423 in 400 adult PTC Belarussian patients of the target age group but no significant association with the risk for sporadic PTC was found.

This result indicates that rs966423 does not contribute to the development of thyroid cancer of any etiology in the East and West Slavs.

As a further step, we aim to genotype a recently discovered rs11693806 on chromosome 2q35, which was reported to display significantly stronger association signal in a group of adult sporadic PTC than rs966423 located in the same gene locus.

**Presented papers**

Poster presentation on The 60<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japan Thyroid Association, October 5 - 7, 2017, Beppu International Convention Center, Beppu city, 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, M. Takahashi, T. Kawaguchi, N. Mitsutake, F. Matsuda, S. Yamashita.



## 重2-24

## 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  
セラノスティクスデバイス研究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、in vivo イメージング施設での RI 標識ナノ粒子の体内動態解析結果について久保均教授らと議論した。また、長谷川准教授が細胞内送達を効率化する金ナノ粒子接合ペプチドの設計および合成方法を提案し、三澤主任研究員が合成実験を担当した。中村教授は有機シリカ金ナノ粒子複合体の効率的な局所投与法として経動脈経路での投与を提案し、動物実験での実現可能性について議論した。

今後は、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セラノスティックデバイス応用を目指した動物実験の検討を行う。

## 発表論文

JC. Aguilar, M Misawa, K Matsuda, Y Suzuki, A Takeuchi and M Yasumoto, Wavelet processing and digital interferometric contrast to improve reconstructions from X-ray Gabor holograms, J Synchrotron Radiation, (in Press)

## 重2-25

## 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)

共同研究者：吉田 由加子

(武庫川女子大学食物栄養学科：大学院生)

横山 愛

(武庫川女子大学食物栄養学科：学生)

小山 千尋

(武庫川女子大学食物栄養学科：学生)

河合 秀彦

(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：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。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。

アスコルビン酸合成欠損マウスに、DNA 二本鎖切断を誘発するエトポシドを投与に対する致死性を検討した。アスコルビン酸を非投与では、比較実験が不可能なため、血中濃度が通常の 1/10 濃度になるように餌によりアスコルビン酸を投与し、比較実験した。この実験にアスコルビン酸合成能の有無は、現在検討中であるが、アスコルビン酸合成欠損マウスでは、アスコルビン酸非存在下では、急死をよく観察できるが、その頻度が上昇している傾向を観察することができた。

今後、詳細に条件を検討後、エトポシドに対する生存能、生殖細胞の存在率など検討したいと考えている。

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。さらに福島原発事故等の被曝時の影響軽減対策の提言にもつながるものと考えている。

#### 発表論文

該当なし

#### 重2-26

#### 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、グリオーマ幹細胞の集団としての維持・拡大過程を詳細に明らかにすることを通して、“グリオーマ幹細胞集団のサイズコントロール療法の確立”に繋げることを目的としている。

本研究において我々は、多くの癌幹細胞に高発現する T-Lak Cell Originated Protein Kinase (TOPK) に対する新規薬剤 OTS964 (OncoTherapy Science 社より提供) を用いて、グリオーマ幹細胞集団のサイズコントロールを試みた。OTS964 は、グリオーマ幹細胞クローンの生存確率を減らしクローン毎の増殖を抑制することを通して、グリオーマ幹細胞集団のサイズを縮小させる効果があることを見出した。また興味深いことに、グリオーマ幹細胞集団の可塑性は維持され、グリオーマ幹細胞は OTS964 に対する再感受性を得ることを見出した。OTS964 は、癌に対する放射線照射量を減らすことで生じ得る、癌細胞の可塑性維持というデメリットを補う可能性を示唆した。

今後は、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げたいと考えている。

#### 発表論文

Sugimori M, Hayakawa Y, Koh M, Hayashi T, Tamura R, Kuroda S. Targeting the T-Lak cell originated protein kinase by OTS964 shrinks the size of power-law coded heterogeneous glioma stem cell populations. *Oncotarget* 2018; 9:3043-3059. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23077>

## 重2-27

### 新規放射線増感剤 SQAP を使用した悪性胸膜中皮腫治療の動物モデルによる研究

#### 研究組織

共同研究代表者：永安 武

(長崎大学大学院 医歯薬総合研究科 病態解析・制御学講座 腫瘍外科学分野：教授)

共同研究者：稲益 英子

(長崎大学大学院 医歯薬総合研究科 病態解析・制御学講座 腫瘍外科学分野：大学院生)

受入研究代表者：松田 直樹

(長崎大学原爆後遺障害研究所：教授)

受入研究者：山内 基弘

(長崎大学原爆後遺障害研究所：講師)

#### 研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究では、生体に対し無毒な新たな放射線増感剤を投与することによって、ヒトの悪性胸膜中皮腫の放射線治療効果が増強されることをマウスモデルで証明することを目的とし、皮下モデルマウスにおいて腫瘍増殖抑制効果を証明した。また腫瘍組織における組織学的解析、文政生物学的解析を行い、SQAP (Sulfoquinovosyl-acyl propandiol) の分子作用機序は Hypoxia-Inducible Factor (HIF) pathway 阻害であると結論づけた。

今後は、この結論を裏付けるための解析を継続するとともに、同所性（胸腔内）モデルにおける生存期間の延長を聡明する予定である

#### 発表論文

現在「Oncotarget」への投稿準備中である

## 重2-28

### YAP メカノホメオスタシス機構解明による新規がん治療法の開発

#### 研究組織

共同研究代表者：清木 誠

(山口大学大学院医学系研究科：教授)

共同研究者：古元 礼子

(山口大学大学院医学系研究科：講師)

浅岡 洋一

(山口大学大学院医学系研究科：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

研究代表者がこれまでに樹立している転写共役因子 YAP 分子ネットワークのデータ（未発表データ）解析に加え、新たに YAP のゲノム結合部位（ChIP sequencing）解析や既知の Hippo シグナルネットワーク分子のデータ解析を実施することにより、Hippo-YAP メカノ分子ネットワークの全体像をとらえることを目的として本研究を実施した。

まず、2次元（2D）および3次元 spheroid（3D）で培養した網膜色素上皮細胞（RPE1 細胞）における Hippo-YAP 遺伝子ネットワークの違いを明らかにするため、YAP 抗体を用いて ChIP（クロマチン免疫沈降）sequencing 解析を試みた。平成 27 年 11 月から、貴施設にて細胞培養、spheroid の作製、ChIP 用サンプル調製までの実験操作について指導を受け、共同で実験作業を行い、昨年度までに 2D 培養下での ChIP の最適条件を決定した。今年度は 3D 培養下での最適条件を決定した上で、ChIP sequencing 解析を行った。

上記と並行してトランスクリプトーム解析として、これまでに 2D および 3D で培養した YAP ノックダウン RPE1 細胞と野生型 RPE1 細胞から RNA を抽出し、RNA sequencing 解析を行い、また、貴施設にてゲノム編集法で作製した YAP ノックアウト RPE1 細胞株についても、同様に RNA sequencing 解析を行った。今年度は Hippo シグナル上流分子で、YAP の不活性化に関わる NF2 遺伝子ノックアウト細胞株を樹立し、2D および 3D 培養条件下で RNA sequencing 解析を行った。

以上、ChIP sequencing と RNA sequencing の結果を総

合的に解析し、新規 Hippo-YAP シグナル関連分子候補をいくつか見出した（未発表データ）。今後は、これら候補遺伝子の発現制御への YAP の関与について、さらに詳細な検討を行いたいと考えている。

#### 発表論文

- ・ Yoichi Asaoka and Makoto Furutani-Seiki. YAP mediated mechano-homeostasis — conditioning 3D animal body shape. *Curr Opin Cell Biol.*, 49: 64-70 (2017)
- ・ 浅岡 洋一, 古谷-清木 誠 再生医療-重力に抗した複雑な立体臓器の構築機構. 季刊 腎と骨代謝 30: 227-232 (2017)
- ・ Yoichi Asaoka, Hiroshi Nishina and Makoto Furutani-Seiki. YAP is essential for 3D organogenesis withstanding gravity. *Dev Growth Differ.*, 59: 52-58 (2017)

#### 重2-29

#### 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

（岡山大学大学院自然科学研究科：特任准教授）

共同研究者：高田 潤

（岡山大学大学院自然科学研究科：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

昨年度は、鉄酸化細菌が作り出す酸化鉄 BIOX を微細粉末化するため、液相アブレーション及びボールミル処理に取り組んだ。本年度は、微細化した酸化鉄 BIOX のヒトがん細胞に対する細胞毒性を検討した。グリオーマ細胞 U251MG に微細酸化鉄 BIOX を添加し培養した結果、顕著に細胞増殖が抑制されてしまい、放射線増感作用の検討を断念した。

最近、鉄酸化細菌の分泌する有機物ナノ繊維（糖鎖、タンパク質、核酸、脂質より形成）が、金（III）イオンを還元し、金ナノ粒子を形成することを見出した。さらに当該粒子形成に糖鎖および核酸の関与を突き止めた。医学の分野において金ナノ粒子は、バイオセンサーや細胞内プローブ、薬物送達物質、光学造影物質、放射線増感剤として注目を集めている。そこで、核酸により形成される金ナノ粒子を用い、放射線耐性を示すがん幹細胞に対する放射線増感作用が見られるか検討することにした。

当該粒子を U251MG 細胞或いは同細胞由来のがん幹細胞 U251MG-P1 に取り込ませた結果、顕著な細胞毒性を示さなかった。然しながら、放射線の照射によって U251MG-P1 細胞の増殖が抑制され、U251MG 細胞と同程度の放射線感受性を示すことが明らかになった。以上の結果は、当該粒子が、がん幹細胞に対する放射線増感剤として応用出来る可能性を示唆している。

今後、がん幹細胞における放射線照射後の細胞応答を明らかにした上で、担がんマウスを用いた *in vivo* 実験系の立ち上げを検討したい。

#### 発表論文

該当無



## 重2-30

### 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：笹谷 めぐみ

(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

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が、思春期後の被ばくでは乳がんのリスクが妊娠・出産経験により変化しない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。昨年度に引き続き本年度は、増殖活性を評価するためにKi-67の染色を試みた。抗体の条件を検討するために、免疫組織化学染色法を用いて思春期前または後の放射線被ばくで誘発された乳がんの増殖活性を妊娠・出産経験の有無で比較した。その結果、思春期前に放射線で誘発した乳がんは、妊娠・出産経験によりKi-67の陽性率が有意に減少した。一方で、思春期後に放射線被ばくで誘発された乳がんは、妊娠・出産経験によりKi-67の陽性率が変化しなかった。これらの結果は、妊娠・出産経験は被ばく時の年齢に依存して正常乳腺や乳がんの性質を変化させていることを示唆している。今後はコラゲナーゼ処理によって単離したラット乳腺細胞をCD49f、CD24、CD61、Ki-67抗体を使用して乳腺の内腔（成熟と前駆細胞）および基底細胞の分画ごとの増殖活性の違いから、妊娠・出産経験によって放射線誘発乳がんのリスクがなぜ下がるのか、またその影響がなぜ被ばく時（思春期前後）で変化するかを明らかにしていく。

#### 発表論文

高島 賢，砂押 正章，金 小海，森岡 孝満：「第8回放射線生物学者のための疫学研修会」参加印象記。保健物理，2018年，印刷中

## 重2-31

### 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<sup>Min/+</sup>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、腫瘍病変部をレーザーマイクロダイセクションシステム（LMD）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、腫瘍部のβカテニン免疫組織化学染色により腫瘍細胞の不均一性が認められた。その為、LMDを用いて採取した陽性がん細胞のDNAを使用してLOH解析用の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、上記手法を用いて低線量被ばく影響のリスク評価を進める予定である。

#### 発表論文

なし

## 重2-32

## 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

(量子科学技術研究開発機構:主任研究員)

共同研究者：山田 裕

(量子科学技術研究開発機構:本部長)

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、昨年度に条件を設定した微量 DNA からの次世代シーケンス解析用サンプル調整法を用いて、自然発症したマウス腸腫瘍 (10 検体) 及び、放射線照射により誘発されたマウス腸腫瘍 (10 検体) から抽出した DNA (100 ng) について、メチル化 DNA 結合蛋白質によるメチル化 DNA の濃縮及び、回収を行った。次いで、回収したメチル化 DNA を用いて次世代シーケンス解析用のサンプル (ライブラリー) を調整し、次世代シーケンスを行った。次世代シーケンスにより取得した配列データを解析した結果、各検体において数千から数万箇所の DNA メチル化領域を同定した。今後は、自然発症腫瘍及び、放射線誘発腫瘍サンプルから得られたデータの解析を継続し、放射線誘発腸腫瘍に見られる DNA メチル化異常の検出と標的遺伝子の抽出を行う。

## 発表論文

なし

## 重2-33

## 放射線による味覚障害メカニズムの研究

## 研究組織

共同研究代表者：小西 勝

(広島大学病院歯科放射線科:助教)

共同研究者：澤尻 昌彦

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科:非常勤講師)

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)

## 研究内容・研究成果・今後の展望等

本研究は、舌癌放射線治療後に見られる味覚障害の要因を分子レベルで明らかにして、将来的には味覚障害の対応策につながることを期待して行った。研究は味覚障害のない健常者と舌癌で放射線治療を受けた患者を対象に実施した。

健常被験者の舌表面からプラスチック製の器具で擦過して採取した試料を 2 群に分け、一方のみに 5 Gy の放射線を照射した後、放射線を照射していない群とともに直ちに total RNA を抽出して、リアルタイム PCR によって発現する味覚受容体の量を測定した。

舌癌で放射線治療を受ける患者に対しては、放射線が照射された患側と反対側の非照射側からそれぞれの舌表面をプラスチック製の器具で擦過によって細胞を採取した。得られた試料から total RNA を抽出してリアルタイム PCR によって発現する味覚受容体の量を測定した。

味覚受容体として、うま味受容体 (T1R1)、甘味受容体 (T1R2)、うま味と甘味共通受容体 (T1R3)、苦味受容体 (T2R5) の値を測定した。尚、上記研究の前者、後者とも、広島大学疫学研究倫理審査委員会より許可を得ている (第 E-580 号、第 E-862 号)。

健常被験者における実験 (3 名分) の結果は、放射線を照射した群は、非照射群に対して、T1R1 が 0.91 倍、T1R2 が 0.71 倍、T1R3 が 0.82 倍、T2R5 が 0.86 倍の発現量を示した。すべての味覚受容体において放射線照射によりその発現量は低下した。

放射線治療を受けた患者に関しては、8 名 (13 試料分) から検体の採取を行った。放射線治療による粘膜炎が生じている期間 (治療後 1～3 ヶ月) の患者では、放射線を照射した側は、非照射側に対して、T1R1 が 1.17 倍、T1R2 が 1.23 倍、T1R3 が 0.77 倍、T2R5 が 0.59 倍の発現量を示し、うま味/甘味、苦味受容体で発現量が低下していた。一方、放射線治療による粘膜炎が改善している状態の放射線治療



を受けて1年以上(12～33ヶ月)経過した患者では、放射線を照射した側は、非照射側に対して、T1R1が3.77倍、T1R2が3.64倍、T1R3が2.67倍、T2R5が1.49倍の発現量を示し、いずれも非照射側よりも発現量が増加していた。

今回の研究では、プライマーの選定や実験手技の確立に時間を要したため、想定していた数のデータを得ることができなかった。今後は、放射線治療患者、健常被験者とも対象者を増やして研究を継続し、出来るだけ早期にまとまったデータを発表する予定にしている。

#### 発表論文

なし。

#### 重2-34

#### *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：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)

上芝 秀博

(東京女子医科大学実験動物中央施設：助教)

宮川 佳彦

(東京女子医科大学実験動物中央施設：実験動物技術者主任)

比留川 和里

(東京女子医科大学実験動物中央施設：実験動物技術者)

山中 正史

(東京女子医科大学実験動物中央施設：実験動物技術者)

小泉 美穂

(東京女子医科大学実験動物中央施設：助教)

米山 守

(東京女子医科大学実験動物中央施設：飼育技術員主任)

高橋 怜央

(東京女子医科大学実験動物中央施設：飼育技術員)

受入研究代表者：中田雄一郎

(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

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 マウスを掛け合わせることにより、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た。

p210BCR/ABL Tg マウスと Pin1 コンディショナル KO マウスを掛け合わせた p210BCR/ABL Tg / Pin1 コンディショナル KO 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)を行った結果、これまでに Pin1 コンディショナル

KO による p210BCR/ABL Tg マウスの病態進行にたいする明らかな効果を認めなかった。今後はさらに白血病の病態に影響すると思われる他の Tg または KO マウスと p210BCR/ABL Tg マウスと掛け合わせたマウスについて解析を進めて行く予定である。

#### 発表論文

なし

#### 重2-35

#### 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解析、循環腫瘍細胞を用いた遺伝子異常、遺伝子発現、蛋白発現解析などを行い、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シーケンスに加えて、全ゲノム解析、全ゲノムメチル化解析を行った。

その結果、成人腫瘍では膀胱がん、肺癌で、小児固形腫瘍の中で肝芽腫、神経芽腫などの循環腫瘍細胞や血漿中の遊離 DNA を用いて、腫瘍遺伝子変異、遺伝子発現解析法を確立して、データを集積した。

#### 発表論文

Brock PR, Maibach R, Childs M, Rajput K, Roebuck D, Sullivan MJ, Laithier V, Ronghe M, Dall'Igna P, Hiyama E, Brichard B, Skeen J, Mateos ME, Capra M, Rangaswami

AA, Ansari M, Rechnitzer C, Veal GJ, Covezzoli A, Brugières L, Perilongo G, Czauderna P, Morland B, Neuwelt EA. Sodium Thiosulfate for Protection from Cisplatin-Induced Hearing Loss. *N Engl J Med*. 2018 Jun 21;378(25):2376-2385.

Nakamura H, Bono H, Hiyama K, Kawamoto T, Kato Y, Nakanishi T, Nishiyama M, Hiyama E, Hirohashi N, Sueoka E, Poellinger L, Tanimoto K. Differentiated embryo chondrocyte plays a crucial role in DNA damage response via transcriptional regulation under hypoxic conditions. *PLoS One*. 2018 Feb 21;13(2):e0192136.

Tanaka M, Kohashi K, Kushitani K, Yoshida M, Kurihara S, Kawashima M, Ueda Y, Souzaki R, Kinoshita Y, Oda Y, Takeshima Y, Hiyama E, Taguchi T, Tanaka Y. Inflammatory myofibroblastic tumors of the lung carrying a chimeric A2M-ALK gene: report of 2 infantile cases and review of the differential diagnosis of infantile pulmonary lesions. *Hum Pathol*. 2017 Aug;66:177-182.

### 重3-1

#### 細胞質内での ATM 活性化機構の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)

共同研究者：村田 泰彦

(東北大学大学院医学系研究科：助教)

橋本 拓磨

(東北大学大学院医学系研究科：助教)

志賀 壮一郎

(東北大学大学院医学系研究科：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

本研究では、培養ヒト線維芽細胞 LM217 と培養ヒト肝癌細胞 HepG2 を用いて低酸素・低栄養状態での放射線感受性と ATM・AMPK の発現・活性について調べた。その結果、低酸素・通常栄養状態に比べ低酸素・低栄養状態では、LM217 細胞は放射線抵抗性になり、HepG2 細胞は放射線高感受性となった。低酸素・低栄養状態において、LM217 細胞では AMPK 活性と ATM の発現は亢進し、HepG2 細胞では AMPK 活性と ATM の発現は低下していた。LM217 細胞を用いて AMPK をノックダウンすると、低酸素・低栄養状態での ATM の発現亢進は消失し放射線感受性は低酸素単独の状態とほぼ同等となった。これらの結果から、低酸素・低栄養状態での LM217 細胞の放射線抵抗性には、AMPK を介した ATM の発現亢進が関与していることが示唆された。

今後は、低酸素・低栄養状態での AMPK を介した ATM の発現亢進の機序を解明する必要がある。

##### 発表論文

Murata Y, Hashimoto T, Urushihara Y, Shiga S, Takeda K, Jingu K, Hosoi Y. Knockdown of AMPK $\alpha$  decreases ATM expression and increases radiosensitivity under hypoxia and nutrient starvation in an SV40-transformed human fibroblast cell line, LM217. *Biochem Biophys Res Commun*. 495:2566-2572, 2017.

## 重3-2

## 環境放射線による放射線施設監視モニタの感度確認

## 研究組織

共同研究代表者：安岡 由美

(神戸薬科大学放射線管理室：講師)

共同研究者：向 高弘

(神戸薬科大学薬品物理化学研究室：教授)

飯本 武志

(東京大学環境安全本部：准教授)

受入研究代表者：石川 徹夫

(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：大森 康孝

(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

全国の密封されていない放射性同位元素取扱施設からの気体状 RI の漏えい監視のモニタとして、日立製作所製通気式電離箱(電離箱 H)と富士電機製通気式電離箱(電離箱 F)がよく使用されてきた。監視モニタの整備を確実に方法論を確立するために、まず平常時に測定している屋外ラドン濃度の測定が可能であることを、電離箱 H について行い、報告した<sup>I, II)</sup>。そこで、本研究では電離箱 F について、検討した。図 1 に以下の①～③で測定した屋外ラドン濃度の季節変動を示した。図 1 の①は、室温変動時の電離箱 H (福島県立医科大学医学部附属放射性同位元素研究施設の監視モニタ)、②は室温一定時の電離箱 F (神戸)、③は室温変動時の電離箱 F (神戸)

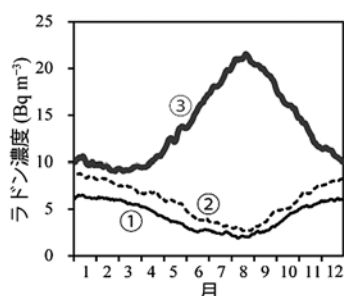


図1 屋外ラドン濃度の季節変動

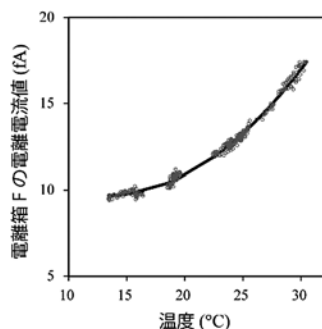


図2 バックグラウンド値の温度依存性

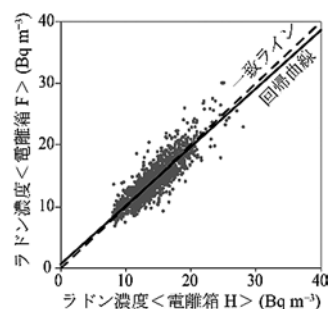


図3 ラドン濃度測定値の一致性

で得た結果である。①と②の季節変動パターンは一致したが、パターンの一致しない③のデータは温度依存性の成分により、正確な季節変動を示していないと考えた。そこで電離箱 H と電離箱 F を用いて、温度変動下で、窒素ガスを投入して、バックグラウンド測定<sup>\*)</sup>を行った。電離箱 H のバックグラウンド値は一定であったが、電離箱 F のバックグラウンド値は温度の関数として、2 次式で近似することに成功した(図 2)。変換係数も若干の補正を加え、電離箱 H と電離箱 F で並行測定<sup>\*)</sup>を行った結果、値が一致し、両者とも使用可能とわかった(図 3)<sup>1)</sup>。今後は、実用化に向けて、電離箱 H と電離箱 F で、屋内外の環境中のラドンを用いて、監視モニタの整備が可能かどうか検討を進めていきたい。

## 参考資料

- I) Tajika, Y., Yasuoka, Y. (責任著者), et al., J. Radioanal. Nucl. Chem. 295, 1709-1714, 2013.
- II) Tanaka, A., Yasuoka, Y. (責任著者), et al., Radiat. Prot. Dosim. 177, 324-330, 2017.

\*) 本共同研究費で購入した消耗品のフィルター及びチューブを使用した実験。

## 発表論文

- 1) 吉井未来, 安岡由美他, 第 19 回「環境放射能」研究会 2018 年 3 月 13 日 学会発表予定

## 重3-3

*The impact of radiation on cardiac mesenchymal stem cell derived exosomes*

## Research Organization:

Representative Joint Researcher: Yaoliang Tang  
(Professor: Augusta University)

Representative Resident Researcher: Tao-Sheng Li  
(Professor: Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University)

## Contents, Results and Prospects of Study:

Our previous study demonstrated the beneficial effects of exosomes secreted by cardiac mesenchymal stem cells (C-MSC-Exo) in protecting acute ischemic myocardium from reperfusion injury. Here, we investigated the effect of exosomes from C-MSC on angiogenesis in ischemic myocardium. Exosomes from C-MSC were purified and confirmed by Immuno-electron microscopy imaging using CD63 as a marker. We intramyocardially injected C-MSC-Exo or PBS into the infarct border zone after induction of acute mouse myocardial infarction (MI). Left ventricular function was evaluated by transthoracic echocardiography, capillary density was quantified by immunofluorescent staining for CD31, and proliferative cardiomyocytes were identified by Ki67+cTnI+ cells. We observed that hearts treated with C-MSC-Exo exhibit improved cardiac function compared to control hearts treated with PBS at 4 weeks after MI. Capillary density and Ki67-positive cells were significantly higher following treatment C-MSC-Exo as compared with PBS. Moreover, C-MSC-Exo treatment increased cardiomyocyte proliferation in infarcted hearts. In conclusion, intramyocardial delivery of C-MSC-Exo after myocardial infarction enhances cardiac angiogenesis, promotes cardiomyocyte proliferation, and preserves heart function. C-MSC-Exo constitute a novel form of cell-free therapy for cardiac repair.

## Presented papers:

In preparation

## 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：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：博士研究員)

岩佐 磨佐紀

(滋賀医科大学医学部附属病院輸血部：特任助教)

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

本研究では、低線量放射線がヒト骨髄間葉系幹細胞 (bone marrow mesenchymal stromal/stem cell, 以下 BM-MSC) の機能にもたらす影響を検討した。健康成人由来 BM-MSC に 0.1Gy のガンマ線照射 (セシウム 137、0.8Gy/分) を行ったのちに骨分化能・脂肪分化能を評価したところ有意な低下は認めなかった。しかしながら、増幅能は5ロット中2ロットで一時的な遅延が認められた。マイクロアレイ解析によってこの2ロットでのみ発現が低下する1495遺伝子を抽出し、pathway解析を行うと細胞周期に関するコードに有意差が認められた。

次に、0.1Gy ガンマ線照射を受けた BM-MSC の造血支持能を検討した。ガンマ線照射後の BM-MSC と CD34 陽性幹前駆細胞の共培養を行ったところ、5ロット中2ロットで CD34 陽性 CD38 陽性細胞の産生が亢進した。この BM-MSC 2ロットでは、interleukin-6 の発現上昇と stem cell factor/ FMS-like tyrosine kinase 3 ligand の発現低下が認められた。これらの変化は、BM-MSC を長期間継続培養することで回復していた。

以上の結果より、0.1Gy の急性低線量放射線は一部のヒト BM-MSC に対して増幅能の低下と CD34 陽性 CD38 陽性細胞産生能の亢進を引き起こすが、その影響は一時的であることが明らかとなった。

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

Fujishiro A, Miura Y, Iwasa M, Fujii S, Sugino N, Andoh A, Hirai H, Maekawa T, Ichinohe T. Effects of acute exposure to low-dose radiation on the characteristics of human bone marrow mesenchymal stromal/stem cells. *Inflamm Regen*. 2017;37:19. doi: 10.1186/s41232-017-0049-2.

## 重4-2

## 造血幹細胞移植合併症に対する間葉系幹細胞由来細胞外小胞の組織修復効果の検討

## 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:研修員)

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)

高折 晃史

(京都大学大学院医学研究科血液・腫瘍内科: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

同種造血幹細胞移植後のステロイド抵抗性急性移植片対宿主病 (aGVHD) に対する標準的治療法は確立されておらず、その予後は著しく不良である。最近、aGVHD の治療薬として、ヒト骨髓由来間葉系幹細胞 (BM-MSC) 製剤の臨床使用が可能となったが、その治療効果の発現機序は完全には明らかにされていない。本研究では、近年注目されているヒト BM-MSC 由来の細胞外小胞 (extracellular vesicles: EV) による抗 aGVHD 効果の免疫学的機序を検討した。

複数のヒト BM-MSC 株の培養上清より EV を分離し、イムノプロットによって CD63/CD81 分子の発現および透過型電子顕微鏡によって小型膜小胞体の微粒子の存在を確認した。ヒト末梢血単核球を抗 CD3/CD28 抗体で刺激する系において、EV は CD8+ および CD4+T 細胞の増殖を用量依存的に抑制し、CD4+CD25+ 制御性 T 細胞 (Treg) 亜分画中の CD45RA+FOXP3<sup>low</sup> 分画の保持作用を示した。マウス aGVHD モデルにおいて EV 投与群は非投与群と比較し、エフェクター T 細胞 / ナイーヴ Treg 分画の比率の低下、aGVHD による組織障害の有意な軽減と生存期間の延長が確認された。今後 BM-MSC 由来 EV による新たな aGVHD 治療法の開発が期待される。

## 発表論文

Graft-Versus-Host Disease Amelioration by Human Bone Marrow Mesenchymal Stromal/Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles Is Associated with Peripheral Preservation of Naive T Cell Populations. *Stem Cells*. 2017 Dec 14. doi: 10.1002/stem.2759. [Epub ahead of print]

Isolation of mesenchymal stromal/stem cells from

cryopreserved umbilical cord blood cells. J Clin Exp Hematop. 2017 Jul 5;57(1):1-8. doi: 10.3960/jslrt.16019. Epub 2017 Apr 18.

### 重4-3

#### 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)

共同研究者：脇坂 恵美

(広島大学病院未来医療センター：契約技能員)

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・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4-4

## X線照射の神経軸索伸長過程に及ぼす影響の解析

## 研究組織

共同研究代表者：加藤 真介

(横浜薬科大学・放射線科学研究センター：教授)

共同研究者：梅田 知伸

(横浜薬科大学・放射線科学研究センター：講師)

小林 芳子

(横浜薬科大学・放射線科学研究センター：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

本研究では、放射線治療計画を模倣した1日あたり2 Gy（線量率：2 Gy/分）の照射を3日間連続して行った場合、神経系細胞の神経軸索伸長にどのような影響を与えるかを調査した。実験系として、PC12細胞の神経成長因子（NGF）誘導の神経軸索伸長を用いた。神経軸索伸長過程の様々なステージへの影響を観るために、照射の開始時期をNGF刺激の1日後、3日後および5日後と複数設定し、各々の細胞をstage 1、stage 2 および stage 3 の細胞とした。最終照射日の1日後の細胞を解析した。

その結果、stage 2 および 3 における神経軸索の長さおよび分岐の数は照射の影響を受けなかった。しかしながら、stage 1 の細胞においては照射による軸索の伸長がわずかに抑えられ、細かい分岐が増えていた。これらの変化は、superoxide anion のスカベンジャーである tempol によって抑制された。そこで次に superoxide anion の分解酵素である SOD の活性を測定したところ、stage 1 の細胞の SOD1 と SOD2 にいずれの活性も、その後の stage の細胞よりも低いことが分かった。さらに各 stage の superoxide anion 陽性細胞の割合を確認したところ、stage 1 の細胞において高くなっていることがわかった。

以上の結果より、神経軸索伸長過程の初期 stage にある細胞は、照射による酸化ストレスに対する感受性が高く、結果的に神経軸索伸長に影響がでるものと考えられた。今後は、軸索の伸長に必要とされる Tau の発現と軸索の分岐に必要とされる MAP2 の発現を観察し、この現象のメカニズムを解明したい。

## 発表論文

(関連テーマ) Katoh Shinsuke, Kobayashi Junya, Umeda

Tomonobu, Kobayashi Yoshiko, Izumo Nobuo, Suzuki Takahiko: Chronic irradiation with low-dose-rate  $^{137}\text{Cs}$ - $\gamma$  rays inhibits NGF-induced neurite extension of PC12 cells via  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulin-dependent kinase II activation: *J. Rad. Res.*, 58(6), 809–815 (2017).

## 重4-5

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

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っている。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、ヒト正常細胞を用いて、低線量を含む放射線照射後の免疫反応を解析する。

これまでの申請者の研究により、放射線照射によって誘発されるがん細胞内の PD-L1 の発現は、ATM 依存的事であることが明らかになっている (Sato H., Nature Communications, 2017)。しかし一方で、ヒト正常線維芽細胞では放射線照射によって PD-L1 が誘発されなかった。がん細胞株である U2OS では放射線照射後に PD-L1 発現量の上昇が認められていることから、今年度は、なぜ正常細胞では放射線誘導性の PD-L1 発現が起こらないかを検討した。ヒト正常細胞における PD-L1 発現抑制が遺伝子レベルで起こっているかどうかを検討するため、初代培養線維芽細胞に HDAC 阻害剤を添加し、10 Gy X 線照射後の PD-L1 発現量を調べた。HDAC 阻害剤の添加により、PD-L1 は発現上昇したが、HDAC 阻害剤存在下において放射線照射した場合に、相乗効果は認められなかった。

PD-1/PD-L1 免疫応答に関わる研究は、多くががん治療を目的として行われてきた。しかし一方で、放射線被ばくを受けた正常細胞における免疫反応については未だ多くが明らかになっていない。放射線照射後の正常細胞における PD-L1 の発現レベルを検討することで、放射線照射後の正常細胞における免疫応答が解明されと考えている。

## 発表論文

1. Hiro Sato, Atsuko Niimi, Takaaki Yasuhara, Tiara Bunga Mayang Permata, Yoshihiko Hagiwara, Mayu Isono, Endang Nuryadi, Ryota Sekine, Takahiro Oike, Sangeeta Kakoti, Yuya Yoshimoto, Kathryn D. Held, Yoshiyuki Suzuki, Koji Kono, Kiyoshi Miyagawa, Takashi Nakano and Atsushi Shibata\*. DNA double-strand break repair pathway regulates PD-L1 expression in cancer cells, Nature Communications, 8(1):1751, 2017. IF: 12.124, \*Corresponding author
2. Yoshihiko Hagiwara, Atsuko Niimi, Mayu Isono, Motohiro Yamauchi, Takaaki Yasuhara, Siripan Limsirichaikul, Takahiro Oike, Hiro Sato, Kathryn D. Held, Takashi Nakano and Atsushi Shibata\*. 3D-structured illumination microscopy reveals clustered DNA double-strand break formation in widespread  $\gamma$ H2AX foci after high LET heavy-ion particle radiation. Oncotarget, 8:109370-109381, 2017. \*Corresponding author

**重4-6*****A cross-cultural research of quality of life among medical staff in Japan and Belarus*****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)

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

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)

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

**Contents, Results, and Prospects of Study**

1. determining of tools for research by all researches finally
2. determining of selection of research group (400 persons)
3. continuation carrying out research
4. determining public health organizations for performing research
5. determining unified database about research
6. determining literature review

**[Nagasaki Univesity]**

We submitted the research plan to the Ethics Committee of Nagasaki University and received approval.

We are preparing for questionnaires to Nagasaki University hospital staff.

**In the future...**

1. completion data acquisition
2. interpretation and comparison of results of research
3. statistical processing of results

4. preparing of the final report of research
5. presented result (article)



## 重4-7

**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)

真田 洋平

(広島大学病院 未来医療センター:研究教育補助職員)

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)

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

マウスアキレス腱切離モデルへのヒト間葉系幹細胞 (MSC) 由来エクソソーム投与によりアキレス腱の修復が促進された。継代数の少ない MSC 由来エクソソーム (P5) と継代を重ねた MSC 由来エクソソーム (P12) を比較したところ、アキレス腱の修復促進効果は、P5 に比べ

て P12 で顕著に低下した。また、P5 と P12 の MSC およびエクソソームの表面糖鎖の網羅的解析を行ったところ、P5 と P12 の MSC やエクソソームで発現に違いのある糖鎖群が見いだされた。本研究は、MSC 由来エクソソームが、アキレス腱修復を促進することを明らかにした。継代数の異なる MSC 由来エクソソームは、その修復効果や表面糖鎖の発現パターンに違いがあることを明らかにした。

## 今後の展望等

今後さらに MSC 由来エクソソームの質 (組織修復能) を評価するためのマーカーとして MSC およびエクソソーム表面の糖鎖に注目し、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精製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。

## 重4-8

## 循環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：木原 康樹

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院循環器内科学：教授)

共同研究者：丸橋 達也

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院循環器内科学：医科診療医)

岸本 真治

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院循環器内科学：大学院生)

松井 翔吾

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院循環器内科学：大学院生)

橋本 東樹

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院循環器内科学：大学院生)

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

本研究では、放射線による高度のリンパ管障害に対する間葉系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、リンパ管の構成上非常に重要なリンパ管内皮細胞の機能解析を行う。本研究により細胞療法、細胞修復・再生バイオ技術を用いた循環器領域の緊急被ばく医療を確立することは国民全体の利益につながり国際協力にも寄与する。緊急被ばく医療として未だ確立されていないリンパ管障害の治療開発に取り組むことにより、世界に先駆けての緊急被ばく医療における循環器領域での細胞治療の開発につながる。本年度は、血管再生のベースとなる血管機能関連研究を実施した。

## 発表論文

1. Oda N, Kajikawa M, Maruhashi T, Iwamoto Y, Kishimoto S, Matsui S, Hidaka T, Kihara Y, Chayama K, Goto C, Aibara Y, Nakashima A, Noma K, Tomiyama H, Takase B, Yamashina A, Higashi Y. Endothelial function is impaired in relation to alcohol intake even in the case of light alcohol consumption in Asian men; Flow-mediated Dilation Japan (FMD-J) Study. *Int J Cardiol.* 2017; 230: 523-528.
2. Kishimoto S, Kajikawa M, Maruhashi T, Iwamoto Y, Matsumoto T, Iwamoto A, Oda N, Matsui S, Hidaka T, Kihara Y, Chayama K, Goto C, Aibara Y, Nakashima A, Noma K, Higashi Y. Endothelial dysfunction and abnormal vascular structure are

simultaneously present in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *Int J Cardiol.* 2017; 231: 181-187.

3. Kajikawa M, Oda N, Kishimoto S, Maruhashi T, Iwamoto Y, Iwamoto A, Matsui S, Aibara Y, Mohamad Yusoff FB, Hidaka T, Kihara Y, Chayama K, Goto C, Noma K, Nakashima A, Taguchi A, Higashi Y. Increasing Risk of Osteoporotic Fracture Is Associated With Vascular Dysfunction and Abnormal Vascular Structure in Both Men and Women. *Circ J.* 2017; 81(6): 862-869.
4. Hirano H, Katsumata R, Futagawa M, Tsuji T, Kishimoto S, Oda N, Kajikawa M, Maruhashi T, Higashi Y. Development of an earlobe crease identification system to support diagnosis of arteriosclerosis. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2016: 2374-2377.
5. Matsui S, Kajikawa M, Maruhashi T, Iwamoto Y, Iwamoto A, Oda N, Kishimoto S, Hidaka T, Kihara Y, Chayama K, Goto C, Aibara Y, Nakashima A, Noma K, Taguchi A, Higashi Y. Decreased frequency and duration of tooth brushing is a risk factor for endothelial dysfunction. *Int J Cardiol.* 2017; 241: 30-34.
6. Oda N, Maruhashi T, Kishimoto S, Kajikawa M, Iwamoto Y, Iwamoto A, Matsui S, Hidaka T, Kihara Y, Chayama K, Goto C, Aibara Y, Nakashima A, Noma K, Hirano H, Higashi Y. Relation of the Bilateral Earlobe Crease to Endothelial Dysfunction. *Am J Cardiol.* 2017; 119(12): 1983-1988.
7. Maruhashi T, Soga J, Fujimura N, Idei N, Mikami S, Iwamoto Y, Iwamoto A, Kajikawa M, Matsumoto T, Oda N, Kishimoto S, Matsui S, Hashimoto H, Aibara Y, Yusoff FBM, Hidaka T, Kihara Y, Chayama K, Noma K, Nakashima A, Goto C, Tomiyama H, Takase B, Kohro T, Suzuki T, Ishizu T, Ueda S, Yamazaki T, Furumoto T, Kario K, Inoue T, Koba S, Watanabe K, Takemoto Y, Hano T, Sata M, Ishibashi Y, Node K, Maemura K, Ohya Y, Furukawa T, Ito H, Ikeda H, Yamashina A, Higashi Y. Endothelial Function Is Impaired in Patients Receiving Antihypertensive Drug Treatment Regardless of Blood Pressure Level: FMD-J Study (Flow-Mediated Dilation Japan). *Hypertension.* 2017; 70(4): 790-797.

8. Matsui S, Kajikawa M, Hida E, Maruhashi T, Iwamoto Y, Iwamoto A, Oda N, Kishimoto S, Hidaka T, Kihara Y, Chayama K, Goto C, Aibara Y, Nakashima A, Yusoff FBM, Noma K, Higashi Y. Optimal Target Level of Low-density Lipoprotein Cholesterol for Vascular Function in Statin Naïve Individuals. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 8422.
9. Ishino T, Ragaee MA, Maruhashi T, Kajikawa M, Higashi Y, Sonoyama T, Takeno S, Hirakawa K. Effects of Cerebral Blood Flow and Vessel Conditions on Speech Recognition in Patients With Postlingual Adult Cochlear Implant: Predictable Factors for the Efficacy of Cochlear Implant. *Ear Hear*. 2017 doi: 10.1097/AUD.0000000000000507. [Epub ahead of print]
10. Maruhashi T, Iwamoto Y, Kajikawa M, Oda N, Kishimoto S, Matsui S, Hashimoto H, Aibara Y, Yusoff FM, Hidaka T, Kihara Y, Chayama K, Noma K, Nakashima A, Goto C, Hida E, Higashi Y. Interrelationships Among Flow-Mediated Vasodilation, Nitroglycerine-Induced Vasodilation, Baseline Brachial Artery Diameter, Hyperemic Shear Stress, and Cardiovascular Risk Factors. *J Am Heart Assoc*. 2017;7(1). pii: e006797.

## 重4-9

## 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

(広島大学医歯薬保健学研究科：教授)

共同研究者：猪村 剛史

(広島大学医歯薬保健学研究科：助教)

中川 慧

(広島大学医歯薬保健学研究科：助教)

黒瀬 智之

(広島大学医歯薬保健学研究科：助教)

河原 裕美

(広島大学医歯薬保健学研究科：研究員)

大塚 貴志

(広島大学医歯薬保健学研究科：大学院生)

城戸 皓輝

(広島大学医歯薬保健学研究科：大学院生)

Shrestha Looniva

(広島大学医歯薬保健学研究科：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

本研究では、細胞培養時のストレス環境に着目して、低酸素や微小重力、過重力環境で細胞培養を行い、再生医療への応用に関する研究を行った。その結果、低酸素環境での培養では、脊髄損傷モデルに対する移植に際し治療効果をも高める遺伝子発現変化を示唆する研究成果が得られた。また、微小重力や過重力環境での細胞培養においても、分化に関わる遺伝子発現に変化があることが明らかとなった。

今後は、ストレス環境に曝露した際に生じる遺伝子発現制御について、DNA損傷応答も含め多角的に解析したい。

## 発表論文

1. Takahashi S., Nakagawa K., Tomiyasu M., Nakashima A., Katayama K., Imura T., Herlambang B., Okubo F., Arihiro K., Kawahara Y., Yuge L., Sueda T. Mesenchymal stem cell-based therapy improves lower limb movement after spinal cord ischemia in rats. *Ann Thorac Surg*. 2018
2. 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4-10****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4-11

## 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髓単核球細胞、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。

## 発表論文

1. Kajikawa M, Oda N, Kishimoto S, Maruhashi T, Iwamoto Y, Iwamoto A, Matsui S, Aibara Y, Hidaka T, Kihara Y, Chayama K, Goto C, Noma K, Nakashima A, Taguchi A, Higashi Y. Increasing risk of osteoporotic fracture is associated with vascular dysfunction and abnormal vascular structure. *Circ J*. 2017;81:862-869.
2. Matsui S, Kajikawa M, Maruhashi T, Iwamoto Y, Iwamoto A, Oda N, Kishimoto S, Hidaka T, Kihara Y, Chayama K, MD, Goto C, Aibara Y, Nakashima A, Noma K, Taguchi A, Higashi Y. Decreased frequency and duration of tooth brushing is a risk factor for endothelial dysfunction. *Int J Cardiol*. 2017;241:30-34.

## 重4-12

## 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、神経細胞機能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、さまざまな神経細胞機能障害が発生することが報告されている。しかし、放射線による神経細胞機能障害について治療法は未だない。そこで、本研究では、神経細胞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。神経細胞前駆細胞への酸化ストレス負荷による神経細胞再生関連因子の発現を検討した。

## 発表論文

なし



## 重5-1

## 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、まず、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」で用いる分析法の基盤となる Tonda and Satoh (2017) の方法を、生存時間データに対応させるための統計理論の整備を行った。具体的には、モデルの離散化とセンサリングへの対応である。次に、開発した空間生存時間データ分析法を実装した解析プログラムの開発を行った。プログラム開発には主に統計ソフトウェア R を用いた。R はフリーソフトであることから、解析プログラムの2次配布も可能であり、shiny と呼ばれるウェブアプリと組み合わせれば、ウェブ上で研究成果の分析法が実行可能となる。また、被爆資料等にあるテキストデータの分析法を開発し、国際会議 BCD 2017 で成果発表を行った (Izumi, Tonda, Kawano and Satoh (2017) , BCD2017 Best Paper Award 受賞)。今後の展望として、貴所の精度の高い位置情報が付与された原爆被爆者データベースを利用して、開発した分析法を用いて固形がんなどの健康被害リスクの地域差を定量的に評価することで、2次的被曝影響を地図として可視化することを試みる。また、被爆資料等のテキストデータを分析し、健康被害リスクを可視化した地図と組み合わせることで、より詳細な検討も試みる。

## 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, 47(1), 1-12, 2017/6.
2. S. Izumi, T. Tonda, N. Kawano, K. Satoh: Estimating and Visualizing the Time-varying Effects of a Binary Covariate on Longitudinal Big Text Data, International Journal of Networked and Distributed Computing, 5(4), 243-253, 2017/10.
3. S. Izumi, T. Tonda, N. Kawano, K. Satoh: Visualize

the longitudinal big text data with a binary covariate: An approach based on keyword's frequency, in Proc. IEEE/ACIT/CSII 2017 International Conference on Big Data, Cloud Computing, and Data Science Engineering (BCD 2017), 284-289, 2017/7.

4. K. Kamo, T. Tonda and K. Satoh: Growth Analysis Using Nuisance Baseline, FORMATH, 16, Article ID: 16.003, 2017/4.

## 重5-2

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史の基礎的研究

## 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導科学研究科：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

本課題では、原医研に保存されている資料や寄贈資料を整理する一方、原医研、広島市内の図書館・文書館、アメリカのテキサス・メディカル・センター・ライブラリ等の資料を使用し、歴史的観点から ABCC/RERF の情報整理を行っている。放射線の問題を社会の中で適切に扱うには、科学的問題だけでなく、人々との信頼関係構築が重要になる。そのため、ABCC/RERF が地域（主に医者と被ばく者）との関係において過去にどのような問題に直面し、どのように改善を図ったのかについて調べている。本年度は、ABCC 初期段階の研究活動と研究以外の諸活動について情報を整理し、特に、広島 ABCC が地域との関係改善のため行ってきた活動の一部を明らかにした（ポスター）。

今後も、資料整備と調査を継続し、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に関する研究を進展させることとする。

## 発表論文と報告

Iida, K. and A. Kubota. (2018) "The ABCC's research and public relations : Historical analysis of papers preserved in archives," *The 2<sup>nd</sup> International Symposium of the Network-type Joint Usage/Research Center for Radiation Disaster Medical Science: For the Establishment of the Science of Resilience*, Feb. 3-4, 2018, Nagasaki Univ., Nagasaki. (poster)

久保田明子「『キツネの足跡』を追いかける－京都大学所蔵荒勝文策関連資料について」政池明編『荒勝文策と原子核物理学の黎明』京都大学学術出版会、2018年3月、379-398.

## 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)

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)

猪川 文朗

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科：大学院)

益田 俊

(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、パーキンソン病の発症と病態に関与が指摘される PKC 基質の Cysteine String Protein Alpha (CSP $\alpha$ ) の前シナプスの機能維持機構に関する論文をまとめることができた。今後も原医研が所有する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.* 37 (2017) 2441-2457.

Shirafuji T, Ueyama T, Tanaka S, Hide I, Saito N and Sakai N. Validation of Anti-CSP $\alpha$ , SNAP25, Tyrosine Hydroxylase, Ubiquitin, Cleaved Caspase 3, and pSer PKC Motif Antibodies for Utilization in Western Blotting. Acta Histochem Cytochem. 50 (2017) 177-180.

Shirafuji, T., Ueyama, T., Adachi, N., Yoshino, K. Sotomaru, Y., Uwada, J., Kaneoka, A., Ueda, T., Tanaka, S., Hide, I., Saito, N. and Sakai, N. The Role of Cysteine String Protein Alpha (CSP $\alpha$ ) Phosphorylation at Serine 10, and 34, by Protein Kinase C $\gamma$  for Presynaptic Maintenance. J. Neurosci. 38 (2018) 278-290.

#### 重5-4

#### 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：准教授)

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)

##### 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。本年度は、昨年度実施した、死亡小票を活用した疾病罹患情報の把握のノウハウを用いて、東日本大震災後に県内外で死亡した福島県民のうち、循環器疾患（脳卒中）が死亡に影響した者がどれだけいるか、検討を行った。

今年度は、平成23年1月1日～平成26年12月31日の間に福島県内の市町村に死亡の届け出のあった者について、その死亡小票に記載されていた病名・症候名から循環器疾患（脳卒中）の罹患者について選り出しを行った。

その結果、対象期間内に死亡の届け出があったのは平成23年26,590人、24年23,704人、25年23,600人、26年23,794人であった。そのうち、死亡の原因として循環器疾患（脳卒中）と考えられる疾患名が挙がっていたのは平成23年1,664人、平成24年1,482人、平成25年1,477人、平成26年1,409人であった。死亡診断書・死体検案書を発行していた機関数は153であった。

これらの結果は福島県内外の両方についてのデータのため、死亡の多くは福島県内のものであると考えられるが、死亡診断書・死体検案書を発行していた機関名の中には、他県の地名を含むものが散見される。また、国外での死亡例もあった。このことから、他県で死亡し、かつ循環器疾患が死亡の原因として挙がっていた者の数は、少ないながらも一定数いるということが明らかとなった。今後は、死亡診断書・死体検案書に記されたこれらの書類を発行した機関の分布・所在地を元に、県外避難者の循環器疾患の発症登録を効率的に行う方法を確立していく予定としている。

る。

発表論文  
なし

### 重5-5

## 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

我々は昨年度、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のうち、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、心理社会的要因、生活習慣と震災後の歯の症状との関連を検討し、避難、精神的不調、トラウマ反応あり、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、特にトラウマ反応との関連が強いことを報告した。本年度は、同様の対象について、これらの関連が性別、年代別で異なるかどうかを検討することを目的とした。「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”“歯ぐきの痛みが災害後悪化した”と回答したものを口腔内環境悪化ありとした。精神的不調はK6にて評価し、13点以上を精神的不調と定義した。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、性別、年代別（65歳以上・未満）に、ロジスティック回帰分析を用いてオッズ比を算出した。特に、トラウマ反応は男性と65歳未満に、避難は65歳以上において関連が強く、該当項目以外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）はそれぞれトラウマ反応が、

女性 2.40 (1.95-2.96)、男性 3.51 (2.71-4.53)、65 歳未満 2.91 (2.41-3.51)、65 歳以上 2.59 (1.88-3.57)、避難は 65 歳未満 1.43 (1.23-1.67)、65 歳以上 1.89 (1.44-2.47) であった。震災後の心理社会的要因、生活習慣は口腔内環境の悪化と関連し、その関連は性、年齢により異なった。性、年齢別の対応が必要である可能性が示唆された。今後、震災後の口腔内環境の悪化と将来の生活習慣病発症との関連を前向きに検討していく必要がある。

#### 発表論文

なし

#### 重5-6

#### 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：福島県県民健康調査

#### 研究組織

共同研究代表者：池田 里美

(順天堂大学公衆衛生学教室：大学院生)

共同研究者：谷川 武

(順天堂大学公衆衛生学教室：教授)

野田 愛

(順天堂大学公衆衛生学教室：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

東日本大震災によって、福島県では被災者の多くが強制的に避難生活を余儀なくされた。このような生活環境の急激な変化は、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ると考えられている。長期化する避難生活によって、このような健康問題が継続し、震災から数年経過した現在も、バイオマーカーに影響している可能性がある。そこで本研究では、2012 年から 2015 年にかけて、震災前後に生活環境が急激に変化した者の血圧値の推移を縦断的に検討した。

対象は、福島県避難域住民 40～79 歳の計 39,187 名(男性：15,926 女性：23,261 名)である。震災直後の住居として「避難所・仮設住宅・借り上げ住宅」と回答した者と、「親戚宅・持家・その他」と回答した者で比較検討を行った。血圧値は収縮期・拡張期ともに水銀血圧計で 1 回測定した。住居変化とその後 3 年間の血圧値の経時的変化との関連について、一般化線形混合効果モデルを用いて検討し、年齢、喫煙・飲酒習慣、BMI、高血圧治療の有無について調整を行った。(ベースライン時に脳卒中・心臓病の既往のある者は除外した。)

避難所、仮設住宅、借り上げ住宅に住環境が変化した男性と女性は、他の住環境に比べ、震災直後に拡張期血圧が有意に上昇していた。(男性：76.6mmHg vs. 77.5mmHg;  $p<0.0001$  女性：73.3mmHg vs. 74.8mmHg;  $p=0.02$ ) 経時的変化に有意差はなかった。また、降圧薬を使用した場合と



使用しなかった場合で分けて解析を行っても、拡張期血圧は男女共に同様の傾向であった。一方、生活環境が急激に変化し、かつ降圧薬を使用していない男性は、震災直後に収縮期血圧が有意に上昇し、(125.5mmHg vs. 127.6mmHg;  $p=0.02$ )、その後、経時的有意に低下していたが、降圧薬を使用していた男性の収縮期血圧は震災直後、経時的変化ともに有意差を認めなかった。

震災による住環境の急激な変化は、震災直後に拡張期血圧を有意に上昇させ、上昇した拡張期血圧は、長期化する避難生活によってその後も低下せずに経過する可能性がある。また、降圧薬の継続使用および新規内服は、収縮期血圧の急激な上昇を防ぐのに役立つ可能性がある。

#### 発表論文

上記結果について現在論文執筆中。

#### 重5-7

#### 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：鈴木 洋平

(順天堂大学 医学部公衆衛生学教室：大学院生)

共同研究者：谷川 武

(順天堂大学 医学部公衆衛生学教室：教授)

野田 愛

(順天堂大学 医学部公衆衛生学教室：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：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

近年、児童の睡眠障害と不安症状及び多動症状の関連について論じた文献が内外において散見されるようになってきている状況が認められる。さらに、自然災害の影響による児童の睡眠状態と不安症状/PTSDの関連を検討した研究も内外で複数報告されている。その点を踏まえ、共同研究代表者らが実施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た調査、及び東日本大震災時の福島県内の避難区域13市町村の小学生、約1万6千人を対象とした調査をもとに、小児の睡眠時間と不安・多動症状の関連について、地域間比較検討を行った。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、上記の関連を調べた。解析の結果、松山市内の小学生では、睡眠時間が少なくなるほど、不安のオッズ比が男子では1.8倍、女子では1.9倍と有意な上昇が認められた。一方で、福島県内の小学生では、男女ともに睡眠時間の違いによる不安のオッズ比の有意な上昇は認めなかった。さらに、松山市内の小学生のうち、睡眠時間が最も長かった群を対照群として、解析を行ったところ、福島県内の睡眠時間が長かった群では、不安のオッズ比が男子では5倍、女子では7倍と有意な上昇が認められた。また、福島県内の睡眠時間が短かった群においても、不安のオッズ比が男子では5.5倍、女子では6.5倍と有意な上昇が認められた。これらの結果から、震災の影響により睡眠時間と不安の関連が増強される可能性が示唆された。

研究成果の一部は、2017年10月にベルリンで開催

された World Psychiatric Association XVII WORLD CONGRESS OF PSYCHIATRY (演題名「The association between anxiety and obesity among the elementary school students in Japan」) にて報告を行っている。

今後の展望であるが、上記のデータをもとにして、男女における睡眠時間と多動の関連に関しても、解析を行う予定である。また、上記一部結果に関しては、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5-8

#### 放射線影響に対する環境エンリッチメントの効果

#### 研究組織

共同研究代表者：横溝 真哉

(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：業務補助員)

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

原子力発電所の事故や津波、火山の噴火などで避難生活を強いられると、精神的、身体的ストレスの増加により健康の悪化が指摘されている。特に子どもは敏感にストレスに反応し、友達と遊べないことで運動不足が問題となっている。近年、遊びや運動のある動物飼育環境であるエンリッチメント環境(EE)は免疫系、神経系、内分泌系を活性化し、動物実験において疾病予防効果が報告されている。

本研究は、3週齢あるいは11週齢のB6C3F1雄マウスを、通常ケージで飼育する群(SE群)と、8倍程度の広さのケージに遊具などを設置し飼育する群(EE群)に分けて8週間飼育を行った。飼育後X線0～2Gyを照射し、経時的に解剖を行い、血清、臓器を採取した。さらに採取した組織の病理学的解析を行った。血清中のLeptinを測定したところEEはSEに比べて有意な減少が観察された。褐色脂肪組織に対してUCP-1の免疫染色を行ったところ、EEではSEに比べてUCP-1の発現が高いことが分かった。このことよりEEでは褐色脂肪の熱産生能が増加していることが考えられる。さらに小腸、大腸に対してHE染色を行ったところ、EEではSEに比べてアポトーシス小体が高頻度に発生していることが分かった。

今後は、アポトーシス制御を行う、JAK-STAT、PI3K、MAPK経路などに着目し、免疫組織化学染色を進めていく予定である。

#### 発表論文

なし

**重5-9*****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: Lushchik 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: Center for International Collaborative Research, Nagasaki University)

**Contents, Results, and Prospects of Study:**

In the framework of the study a mobile ultrasonic screening examination of 470 individuals of the observation cohort in Brest region of Belarus. Vital signs and anthropometry measurements (height, weight and waist circumference) were made. All new participants were assessed for the family history of thyroid diseases, obesity and cardio-vascular diseases as well as for dynamic changes in ultrasound picture for those in follow up. Endocrinologist's check up and Thyroid ultrasound were done, urine and blood sample collection for thyroid status, biochemistry and iodine excretion level analysis. In subjects with newly diagnosed thyroid nodular disease FNA under ultrasonic guidance and cytological assessment was done, biosamples of thyroid punctate were soaked in RNA-later solution for the

future molecular processing. From the screened cohort a group of 90 patients with thyroid nodular disease was selected for DNA-profiling. A set of 4 vitamin D receptor and PPARG+ polymorphisms were analyzed, a paper prepared for the publication.

Biosamples collected from the screened patients is being added and stored for the future molecular analysis for possible agents, associated with persisting thyroid malignancy incidence level.

**Presented papers:**

"Polymorphisms of Vitamin D and PPARG receptors in patients with associated thyroid disorders and metabolic syndrome."

## 重5-10

## 摂食・うつ不安に関連する神経センサーに関する研究

## 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)

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)

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

原発事故後、住民には長期避難生活などにより肥満やうつなど健康・精神面での2次的な影響が深刻化している。メラニン凝集ホルモン受容体 MCHR1 は摂食・うつに関与する創薬標的であり、中枢神経においては非シナプス性のバイオセンサー1次繊毛に局在する。本研究では、繊毛局在型 MCHR1 の特性を深く理解するため、その選択的シグナルと生理的意義について vitro, vivo の両面から解析した。[成果] ① 繊毛局在型 MCHR1 を介する繊毛長制御機構：モデル細胞（1次繊毛選択的に MCHR1 が高発現）、初代海馬神経細胞・海馬スライス培養（1次繊毛に MCHR1 が内在性に発現）を確立した。これら3つの異なるシステムすべてにおいて、nM オーダー MCH は繊毛縮退を引き起こすことを見出した。さらに RNAseq - loss-of-function を活用することで MCHR1 を介した繊毛長制御に関する新規分子を複数同定した。② 環境要因と1次繊毛動態：マウス絶食及び高脂肪食慢性給餌により、脳の特定領域における神経細胞1次繊毛長が有意に変動することを見出した。絶食の場合、海馬 CA1 では繊毛長短縮が観察されるが、CA3, DG では MCHR1 陽性繊毛が存在するにも関わらず、その長さは変化しない。一方、線条体と側坐核における神経細胞1次繊毛長は絶食により有意に伸長した。[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について、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。さらに、非シナプスの1次繊毛発の繊毛縮退が神経細胞全体へ及ぼす影響を調べる。その第一段階として、MCH 添加により繊毛縮退した神経細胞におけるドレブリンやシナプシンの動態について IN Cell Analyzer により数値化する。樹状突起の形状も数値化し、神経細胞

の非シナプス構造を起点とする作動系の波及効果を明らかにする。

## 発表論文

Kobayashi Y, Takemoto R, Yasmato S, Okda Y, Iijima M, Uematsu H, Chaki S, Saito Y. Depression-resistant phenotype in mice overexpressing regulator of G protein signaling-8 (RGS8). Neuroscience (論文投稿中)

Hamamoto A, Kobayashi Y, Saito Y. Melanin-concentrating hormone receptor 1. Encyclopedia of Signaling Molecules 2nd Edition (Ed. S. Choi), 3075-3082. Springer, 2018

Tomoshige S, Kobayashi Y, Hosoba K, Hamamoto A, Miyamoto T, Saito Y. Cytoskeletal-related regulation in primary cilia shortening mediated via melanin-concentrating hormone receptor 1. General Comparative Endocrinology, 253, 44-52, 2017 (表紙採用)

## 重5-11

## 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)

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)

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することを目的とした。具体的には、被爆建物の設計図を中心に、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）による遮蔽解析の可能性について検討した。なぜならば、遮蔽を考える際に、デパートなど大きな建物内で被爆した場合、階数や窓など開口部の形状や大きさ、開口部からの距離によって状況が大きく異なるからである。つまり、本研究は、放射線量の正確な推定に寄与する可能性を持っている。また、今年度は今後の研究に活用できるように資料の概要調査を行い、簡易的な資料リストを作成することについても合わせて目的とした。

今年度はまず昨年度に引き続き「広島市役所」と「広島貯金局」の図面をもとに、GISで解析できるように建物の復元を試みた。しかしながら、窓などの開口部の処理は実行できなかった。また、資料保存箱2箱のフォルダ109件について、2016年度に実施したものから改めて概要調査を行いリストの作成を行った。その結果、統一されたフォーマットで資料が収集されておらず、建物によってデータの多寡があることが確認できた。109件のうち平面図があるものが22件、立体図があるものが17件、その高さの情報がわかるものが12件、開口部の位置が示されているものが12件、開口部の大きさなどが示されているものが3件であった。そのうちの9件は平面図や立体図など多くの図面・データが残されており、（開口部の大きさなど細かい点を除けば）建物の復元可能性が高いと考えられる。そのため今後も引き続き建物データの作成について検討し取り組む必要がある。また、今後、被爆建物が減少していくなかで、このような形で資料を保存しておくことは社会的にも有益であると考ええる。そのほか、建物や試料の状況を把

握するために写真や手記なども収集され、それらを含むものもあった。これらの活用方法に関しても、さらなる検討が必要である。

## 発表論文

なし



## 重5-12

## 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)

共同研究者：Sarata K. Sahoo

(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：上席研究員)

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

本研究では放射性ブ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を解明するために、1) 双葉郡大熊町で大気浮遊塵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、発生源、気象条件および粒子特徴の関係の検討、3) フィルターに捕集されたエアロゾル中の放射性ストロンチウム分析手法の基礎的検討を行った。本研究期間では2017年4月から測定を継続し、粒径  $1.1 \mu\text{m}$  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。HPGe 半導体検出器を用いたガンマ線スペクトロメトリによって濃度を定量した。Cs-137 大気中濃度は  $0.2$  から  $0.7 \text{ mBq m}^{-3}$  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。定常状態を仮定したボックスモデルを用いて時間変化の要因を検討した結果、土壌粒子の舞い上がりによる供給、放射性核種の下方向浸透による固定化、湿性・乾性沈着による除去の大小関係で濃度変化が起きることが示された。ただし、粗大粒子に見られる夏季でも高濃度が観測される期間では土壌とは異なる供給源を与えないと、大気中の放射性セシウムの量を説明できないことが分かった。また、放射性ストロンチウムの定量に向けて、捕集に用いた PTFE フィルターのバックグラウンド測定を実施した。HNO<sub>3</sub>、HClO<sub>4</sub> および HF を用いてマイクロウェーブ分解処理によってブランクフィルター上の Cs、Sr、U、Th の濃度を ICP-MS で測定した結果、十分に低い濃度であることを確認した。今後、粒子毎に異なる起源・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、放射性ストロンチウムの実態解明を進める。

## 発表論文

なし

## 重6-1

シグマ受容体をターゲットにした<sup>123</sup>I- 標識  
脳神経機能診断薬の開発研究

## 研究組織

共同研究代表者：柴 和弘

(金沢大学学際科学実験センター：教授)

共同研究者：北村 陽二

(金沢大学学際科学実験センター：准教授)

小阪 孝史

(金沢大学学際科学実験センター：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)

受入研究者：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、うつ病、不安障害やパニック障害等の多くのストレス性疾患の早期治療につながる早期診断法を開発し、治療回復に時間がかかるストレス性疾患の重症化防止や早期回復を目指す研究である。シグマ受容体は個体レベルや細胞レベルでのストレス反応を緩和し、ストレス状態の細胞内で高密度に発現していることから、ストレス性疾患発症前から脳内シグマ受容体に変化が現れる可能性が高い。そこで、SPECT用の新規I-123標識シグマ受容体イメージング剤の開発を行い、ストレスマウスを用いてシグマ受容体イメージングによるストレス性疾患の早期診断法の確立を目指す。今年度は、10種類のシグマ受容体リガンド候補化合物を合成し、ナット脳組織を用いたin vitro受容体バインディングアッセイを行い、シグマ1受容体およびシグマ2受容体の親和性を調べた。10種類の候補化合物はベサミコール誘導体で、ベサミコールのシクロヘキサン(6員環)骨格を5-8員環に代えた化合物及びそれらの化合物のベンゼン環にブロム基を導入したものである。その結果、ベンゼン環のオルト位にブロム基を有するシクロペンタン骨格を有するベサミコール誘導体、*o*-bromo-5-membered ring vesamicol (OB5V) がシグマ1受容体に対する親和性( $K_i = 5.7 \text{ nM}$ )、シグマ2受容体に対する親和性( $K_i = 119.5 \text{ nM}$ )とシグマ1受容体に高い親和性有し、また、シグマ2受容体親和性が低く、シグマ1受容体選択性が高いことも確認できた。今後、OB 5 V のオルト位にBrの代わりに、同じハロゲンである放射性ヨウ素 $^{123/125}\text{I}$  標識体を合成し、in vivo 実験などを通して $\sigma$ -1受容体イメージング剤の開発研究を行う予定である。

発表論文

なし

## 重6-2

## アミノ酸代謝を菌活性化の指標とする感染症画像診断薬の開発

## 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

本研究では、日和見感染症における病原細菌の活性化の指標となるアミノ酸代謝を利用した感染症画像診断薬の開発を目的としている。日和見感染症とは、ヒトの免疫力が低下した際に、常在菌が活性化して発症する健康障害である。特に、劇症型感染症や敗血症は、急激に病態が進行する危険性の高い疾患であるため、その病原菌の活性化を早期に検出し、発症・重症化を防ぐ必要がある。申請者は、病原菌の活性化に伴うアミノ酸代謝亢進を標的とし、今年度は、種々のアミノ酸のうち、どのアミノ酸が感染症の病原細菌に多く取り込まれるかを検討した。遺伝子操作が容易な大腸菌 K-12 由来株において、この細菌の増殖に必須の天然アミノ酸のうち L-alanine、L-tyrosine、L-methionine 等の中性アミノ酸が、塩基性アミノ酸 L-lysine、L-histidine や酸性アミノ酸 L-aspartic acid と比べて、細菌の増殖初期段階において、他の増殖段階よりも数倍～数十倍多く取り込まれることを確認した。

今後は、中性アミノ酸を基本骨格とする感染症の超早期診断薬の開発に取り組むことを考えている。

## 発表論文

特になし

## 重6-3

## 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。現在、ラットモデルによる再現性を確認し、肺アスペルギルス症との鑑別が問題となる肺ムーコル症ラット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ているところである。

## 発表論文

1. 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 真菌症フォーラム 第 23 回学術集会, 新宿, 2017 年 5 月 27 日最優秀賞 受賞
2. Detection of Invasive Pulmonary Aspergillosis in

Mice Using Lung Perfusion Single-Photon Emission Computed Tomography with  $^{99m}\text{Tc}$ -MAA. 8th Advances Against Aspergillosis, Lisbon, Portugal, 2018年2月1日

#### 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

本研究では、グローブボックス内で放射性ヨウ素を飛散させた後、シクロデキストリン (CD) 水溶液を噴霧することによって、 $^{131}\text{I}$  を空気中からどの程度回収することが出来るか評価した。

グローブボックス内でステンレス試料皿に  $^{131}\text{I}$  ( $\text{Na}^{131}\text{I}$ ) 標準溶液を滴下し、さらに濃硝酸を加えることによって、 $^{131}\text{I}$  を空気中に飛散させた。濃硝酸を加えてから10分後に、エアポンプを用いてグローブボックス内の空気を30分間吸引した。また、濃硝酸を加えてから5分後に、噴霧器を用いて精製水、濃度が1%  $\alpha$ -シクロデキストリン ( $\alpha$ -CDHP) 水溶液、10% の  $\alpha$ -CDHP 水溶液 200ml を噴霧し、さらに5分後にエアポンプを用いてグローブボックス内の空気を30分間吸引した。吸引終了後に、グローブボックスとエアポンプの間に設置された活性炭フィルターをオートウェルカウンタを用いて測定し、グローブボックス内の空気中  $^{131}\text{I}$  放射能濃度を求めた。

グローブボックス内で空気中に  $^{131}\text{I}$  を飛散させた場合の空気中放射能濃度に対して、 $^{131}\text{I}$  を飛散させた後、精製水を噴霧した場合の空気中濃度にはほとんど差は見られなかった。一方、濃度が1% の  $\alpha$ -CDHP 水溶液を噴霧した場合の空気中濃度は34% 低く、10% の  $\alpha$ -CDHP 水溶液を噴霧した場合の空気中濃度は82% 低かった。 $\alpha$ -CDHP 水溶液を噴霧することによって、 $^{131}\text{I}$  の空気中濃度を大幅に低減することが出来た。

これまで、放射性ヨウ素が空気中に飛散した場合、空気を活性炭フィルターに通してヨウ素を回収する方法が一般的であった。本研究により、液体を噴霧することによってヨウ素を回収することが出来ることが分かった。これにより、原子力発電所事故等の放射線災害時に、想定してなかつ

た空間まで放射性ヨウ素が達した場合でも、放射性ヨウ素を回収し、大規模な漏洩、拡散を防ぐことが出来る可能性があると考えられる。今後は、放射性ヨウ素の化学形、空気中濃度、空気の温度、湿度、噴霧する水溶液中の CD 濃度と言った各パラメータが放射性ヨウ素の回収効果にどのような影響を与えるかを評価する等、実用化に向けた研究に取り組んで行く予定である。

#### 発表論文

現在、Health Physics 誌等への投稿に向けて、原稿執筆を行っている。

#### 重6-5

#### 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  $\beta$  線を放出するルテチウム-177 (Lu-177) は、適度な長さの半減期 (6.7 日) を有し、 $\gamma$  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。Lu-177 の試験製造は終了していたが、福島県立医大にて打ち合わせを行い、製造の合理性、経済性を熟考した結果、平成 29 年度においても福島県立医科大学において Lu-177 製造は行わないこととなった。今年度は Lu-177 と同じキレート剤にて標識可能な治療用核種イットリウム-90 (Y-90) を用いて、担がんマウスに対する治療実験を行った。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『ペバシズマブ』にキレート剤として DTPA 誘導体を結合し、Y-90 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 Y-90 標識ペバシズマブを投与し、治療効果を検討したところ、十分な腫瘍増殖抑制効果を示した。ペバシズマブは腫瘍滞留性が高いことから、半減期の長い Lu-177 を用いた治療はより高い治療効果を発揮する可能性があると考えられる。

今後は、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。また、ペバシズマブ以外の抗体についても評価を行う予定である。



発表論文

該当なし

## 重6-6

## 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

近年、アポトーシス関連タンパク質 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がん細胞の治療抵抗性を改善できることが報告されている。そこで、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 阻害剤の併用が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。

前年度までに合成した、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て、in vitro 治療実験を実施した。MCL-1 阻害剤感受性および上皮成長因子受容体 (EGFR) 発現量の異なる三種のがん細胞 (A549, HT29, SW620) に対して、in vitro において  $^{131}\text{I}$  標識抗 EGFR 抗体による治療実験を行い、MCL-1 阻害ペプチドの添加が細胞生存率に与える影響を検討した。MCL-1 阻害剤高感受性で EGFR 高発現である A549 細胞においては、MCL-1 阻害ペプチドの添加により  $^{131}\text{I}$  標識抗 EGFR 抗体を単独で用いた場合に比べて細胞生存率が顕著に低下した。一方で、A549 細胞と同様に MCL-1 阻害剤高感受性ではあるが EGFR 発現量の低い SW620 細胞および、EGFR 高発現ではあるが MCL-1 阻害剤に抵抗性である HT29 細胞においては MCL-1 阻害ペプチドの添加による治療効果増強は観察されなかった。今後は、 $^{131}\text{I}$  標識抗 EGFR 抗体の治療効果に対して、阻害ペプチドが与える影響についてさらなる検証を行う。また、福島県立医科大学で製造された  $\alpha$  線放出核種を用いた検討も進める予定である。

## 発表論文

なし

## 重6-7

## アルファ線内照射治療における放射線線量測定技術開発

## 研究組織

共同研究代表者：松尾 信郎

(金沢大学：講師)

共同研究者：國田 優志

(金沢大学附属病院核医学診療科：医員)

中嶋 憲一

(金沢大学附属病院核医学診療科：准教授)

絹谷 清剛

(金沢大学附属病院核医学診療科：教授)

若林 大志

(金沢大学附属病院核医学診療科：助教)

虎谷 文音

(金沢大学附属病院核医学診療科：医員)

溝上 敦

(金沢大学泌尿器科：教授)

米山 寛人

(金沢大学附属病院放射線部：放射線技師)

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

ラジウム-223 (Ra-223) の壊変はアルファ線又はベータ線に付随してガンマ線も放出する。ガンマ線は SPECT にて撮像可能である。本製剤が保健適応となるがわが国での臨床データは十分には検討されていない。骨転移のある去勢抵抗性前立腺癌患者の治療として、Ra-223 がわが国で今後の利用が期待されている。しかし治療効果予測や薬剤集積の画像診断技術は十分に確立していない。そこで Ra-223 注射液を用いたがんの骨転移や原発性の骨腫瘍等に対する診療の実施にあたり、Ra-223 注射液を用いた内用療法の治療効果予測に関する検査技術を確立することを目的としてこの研究を開始した。まず、ラジウムの撮影方法を確立するため、ラジウムからでるガンマ線を撮影した。撮影は GE 社製 SPECT/CT 装置 Discovery NM/CT670 pro を使用し、コリメータは LEHR, ELRGP, MEGP, HEGP のそれぞれで撮影しシステム感度を得た。その結果、撮影方法としては MEGP コリメータを使用することが最適であることを見出した。

今後は臨床症例において去勢抵抗性前立腺癌患者にラジウム投与を行い、注射の 1 時間、3 時間後、24 時間後、

28 時間後等の撮影を行う予定である。そして長崎大学原爆後障害医療研究所工藤崇教授の指導のもと OLINDA 解析ソフトを用いて、 $\alpha$  線吸収線量を検討したいと考えている。

## 発表論文

Shinro Matsuo, Seigo Kinuya, Atsushi Mizomami, Kenichi Nakajima, Hiroshi Wakabayashi, Takeshi Kudo. Dosimetry of Targeted Ra-223 Treatment for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. European Association of Nuclear Medicine (EANM) 2017, Oct 21-25, 2017, (発表論文：Eur J Nucl Med Mol Imaging 2017;44: s795.)

## 重6-8

### 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：有蘭 ケイラ

(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科：大学院生)

井野 愛理

(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)

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、リチウムが矯正力による歯の移動を抑制する機序の解明のためにメチレンジスルホン酸テクネチウム( $Tc-99m$ )をラットに投与しSPECTで検出した。その結果、コントロールと比較して、矯正力を受けた歯の周囲においてメチレンジスルホン酸テクネチウムの集積が高まることを発見した。また、リチウム投与により歯槽骨周辺でメチレンジスルホン酸テクネチウムが顕著に集積することを見つけたが、この集積は矯正力をかけることによって増強した。これらのことは、矯正力とリチウムは共に骨代謝を亢進させることを示唆しているが、矯正力は骨吸収性に骨代謝を亢進させる一方で、リチウムは骨形成性に亢進させるものと推測される。

今後は集積の経時的変化を調べて矯正力を受けた歯槽骨の骨代謝サイクルを決定し、リチウムの投与量を検討し最適薬効濃度を決定することを計画している。

#### 発表論文

なし

## 重6-9

### PET-MR 複合装置による PET 画像の画質改善に関する研究

#### 研究組織

共同研究代表者：高橋 康幸

(弘前大学大学院保健学研究科：教授)

共同研究者：細川 翔太

(弘前大学大学院保健学研究科：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)

受入研究者：根本 綾香

(福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：技師)

#### 研究内容・研究成果・今後の展望等

PET-MR 複合装置により  $^{13}N-NH_3$  検査による PET 画像の画質改善のため、主にファントム実験による基礎的検討を実施した。また、半導体式個人線量計により PET 検査を担当する放射線作業従事者(医師、サイクロトロノオペレータ、薬剤師、看護師、診療放射線技師)の時間単位の被ばく線量を継続測定し、業務による被ばく線量の低減対策を考察した。

今後は、前者については、基礎実験に基づく臨床応用を実施したい。また、後者については内用療法による作業従事者の被ばく線量測定を実施予定である。

#### 発表論文

PET 検査を担当する放射線作業従事者の被ばく線量に関する内容については、データの解析が終了し投稿準備中である。

## 重6-10

## 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)

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、マウスやラットなどの齧歯類を用いて、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、脳血管関門、血液脳脊髄液関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高磁場 MRI やマイクロ CT、動物用 PET などの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。

本年は、昨年に引き続き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、1.0Gy、1.5Gy の X 線を単回全身照射した。妊娠 C57/B6-j マウスでは、妊娠 13 日目に 0.5Gy、1.0Gy、1.5Gy の X 線を単回全身照射した。放射線曝露された母親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。MRI の撮影では、Diffusion tensor imaging や MR angiography などを行った。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、脳血管の短縮、頭蓋骨の形成の遅れが確認された。依存した脳容積の減少や脳室の拡大が観察された。

今後は、大阪大学で引き続き高磁場 MRI での評価を行い、合わせて福島県立医科大において齧歯類を用いたモデルの作成および小動物 PET を用いて放射線照射による脳発達、脳内での物質代謝やトランスポータ機能の異常、脳内の糖代謝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齡的に評価を行う。

## 発表論文

なし

## F-1

## レギュラトリーサイエンスを導入した放射線教育教材開発

## 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)

飯塚 正明

(千葉大学教育学部：教授)

喜多 和子

(千葉大学大学院医学研究院：講師)

佐藤 泰憲

(千葉大学大学院医学研究院：准教授)

神田 玲子

(国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構  
放射線防護情報統合センター：センター長)

有馬 利昭

(国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構  
人材育成センター教務室)

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

中学校の学習指導要領では、「科学技術と人間」という単元において、エネルギー資源の項に伴い記載されているため、改訂後も放射線の生体影響についての記述は増加したものの、概略的な文章での記載にとどまり、放射線の生体影響を具体的にイメージし、理解することが困難であると考えられる。学校現場でのリスク教育導入のための放射線実験プログラムを開発してきた。昨年度実施した放射線による DNA 損傷を可視化したコメットアッセイ実験は、実際に学校現場の設備で実施することが不可能であった。今年度は、理科教育においてより広く学習される染色体を対象に、学校現場でも実施可能で放射線の生体影響について視覚的に学ぶ実験教材を開発した。作製した実験教材はパイロット的に実験講座で活用し、事項生徒の学習効果について検討すると共に、問題点を改善した。

平成 29 年 12 月 7 日 (木) 13 時より長崎大学原爆後障害医療研究所において「第 2 回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和、実際に開発した上記実験講座教材を使用し

での評価方法に関して討議した。特に 1. クルックス管からの科学史的 X 線発生再現実験、2. 染色体を理解させる実験、3. 大学生の放射線リスク認知度調査について討議し、教材の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。昨年度作成した「学校での放射線リスク教育ガイドブック」を改訂し、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

飯田祥子・前田彩香・杉田克生「放射線リスク教育のための学習プログラムの開発」 千葉大学教育学部研究紀要 vol66. No 1, pp.363-367 (平成 29 年 12 月 1 日発行)。

土岐香苗, 杉田克生, 喜多和子, 野崎とも子, 野村純 「染色体放射線傷害指導のための教材開発」 千葉大学教育学部研究紀要 vol 66. No. 2, pp.323-327 (平成 30 年 3 月 1 日発行)



**F-2*****53BP1 expression in endometriosis-associated ovarian cancer*****Research Organization:**

Representative Joint Researcher: Dr. Khaleque N Khan  
(Associate Professor: Kyoto Prefectural University of Medicine)

Joint Researcher: Dr. Jo Kitawaki (Professor: Kyoto Prefectural University of Medicine)

Representative Resident Researcher: Dr. Masahiro Nakashima (Professor: Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University)

Representative Researcher: Dr. Katsuya Matsuda (Assistant Professor: Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University)

**Contents, Results and Prospects of Study:**

A defective DNA damage response can result in genomic instability (GIN) and is central to any carcinogenic process. The p53-binding protein 1 (53BP1) is a nuclear protein that rapidly localizes at the sites of DNA double strand breaks and activates p53 along with other kinases. We planned to investigate the expression of 53BP1 as a useful tool to estimate the level of GIN as well as malignant potential of ovarian endometrioma. This study is still ongoing due to collection of less number of samples. As we mentioned in our initial proposal, we will perform immunofluorescence for 53BP1 expression and evaluate the results based on the pattern of its expression such as stable type, low DDR type, high DDR type and larger nuclear foci type. We will also perform double-level immunofluorescence staining of 53BP1 and Ki-67 expression to clarify the association between type of 53BP1 expression and cycling cells.

**Presented papers:**

- (1) Nakashima M et al., Foci formation of 53BP1 in thyroid tumors: activation of genomic instability during thyroid carcinogenesis. *Int. J Cancer* 2008;122:1082-1088.
- (2) Matsuda K et al., Significance of p53-binding protein 1 nuclear foci in uterine cervical lesions: endogenous DNA double strand breaks and genomic instability

during carcinogenesis. *Histopathology* 2011;59:441-451.

## F-3

## 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科：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

本研究では、自然免疫における optineurin の機能解析を行っている。現在までに、自然免疫で中心的な役割を担う分子の発現に optineurin が関与していることを示唆するデータが得られている。今後、詳細な検討を行っていく予定である。

## 発表論文

特にありません。

## F-4

## 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科：教授)

共同研究者：伊藤 日加瑠

(広島大学医歯薬保健学研究科：助教)

野崎 香葉子

(広島大学医歯薬保健学研究科：研究員)

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不安関連行動の増悪を示すようになった。これらの動物に対して 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たところ、社会回避行動や高架式十字迷路試験における不安関連行動の改善効果が観察された。

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シグナル経路として TSPO を同定するとともに、新たな抗うつ薬の候補物質への展望を開くものと期待される。

## 発表論文

なし

## F-5

## 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

(長崎大学腫瘍外科：講師)

共同研究者：田中 彩

(長崎大学腫瘍外科：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

本年度は、約 100 症例の甲状腺乳頭癌サンプルについて、*BRAF* 変異、*TERT* プロモーター変異、*TERT* mRNA 発現量の解析を行った。*TERT* プロモーター変異には、通常の Sanger シークエンシングで検出できないような低アレル頻度の変異を持った症例が存在し、これらのサンプルにおいても *TERT* mRNA が高発現していることが確認された。これら症例の臨床病理学的指標と、上記変異、発現データとの相関を調べたところ、癌の予後と *TERT* mRNA 発現量に関連がある可能性が示唆された。今後は、症例数を増やして同様の解析を行っていく予定である。

## 発表論文

なし

## F-6

## 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行うことを目的として、マイクロチップ自動電気泳動システム Tape Station を利用した。今回は、1975 年以前、1976-2000 年、2001 年以降の 3 つの異なる保存期間について広島大学病院 (HU)、日赤 (RC) および県病院 (HP) から甲状腺がん試料を各期間・各施設 7 例ずつを目標として総計 57 症例から normal 部位と cancer 部位の収集を試みたが、結果的に、HU から normal 15 例、cancer 17 例、RC および HP よりそれぞれ 13 例と 20 例、9 例と 11 例の DNA 試料が調製可能であった。これらの試料を用いて調製した DNA library のサイズを Tape Station により比較した結果、ほぼすべての試料で 300 bp 以下であった。また、RNA 試料としては 1 枚のスライドガラスから cancer 部位を集め、RNA 抽出、RNA 用 library を調製し、RNA の品質評価のため RNA Integrity Number (RIN) とその RNA library サイズを Tape Station により比較した。その結果、RNA の RIN については一部の古い試料以外、ほぼ中程度の品質と評価され、RNA library サイズは 230 bp 以上で年代と施設による差は確認できなかった。

これまでの結果は原爆被爆者以外の試料を用いた検討であったが、今回の結果から甲状腺乳頭癌の保存組織から抽出した DNA/RNA から調製された試料を用いた全ゲノム

シーケンス（WGS）および RNA シーケンスが可能と考えられたことから、原爆被爆者の保存組織試料を用いた研究を開始するための準備を進める予定である。

#### 発表論文

なし。

#### F-7

### 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

（九州大学歯学研究院 OBT 研究センター：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）

中富 千尋

（九州歯科大学 分子情報生化学分野：大学院）

受 入 研 究 者：中田 雄一郎

（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よ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（p130CasDSH2）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 と会合する分子として Bif-1 を同定した。

Bif-1 は破骨細胞の分化に応じて発現量が上昇した。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。一方、Bif-1 を破骨細胞に過剰発現すると細胞死を誘導した。FLAG-Bif-1 と Myc-p130Cas を共発現させ、抗 Myc 抗体で免疫沈降を行うと p130Cas と Bif-1 が会合することがわかった。さらに Bif-1 を過剰発現すると p130Cas の発現量も上昇することから、Bif-1 が p130Cas の発現量を制御する可能性が示唆された。また老齢（24 週齢）Bif-1 欠損マウスでは野生型マウスと比較して、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、Bif-1 は p130Cas の発現量を制御することで破骨細胞の骨吸収に関与し、さらに細胞死を制御する可能性が示唆された。

【今後の展望】 Bif-1 が p130Cas の発現量を調節する可能性が考えられるので、発現制御の分子機構を明らかにする。また野生型マウスおよび Bif-1 欠損マウスに rhRANKL を投与し、骨粗鬆症を誘導した後に  $\mu$ CT および pQCT 撮影を行い、海綿骨の 3 次元構造と骨密度を測定する。また組織切片を作製し、骨形態計測を行う。得られた結果を元に論文発表する予定である。

#### 発表論文

なし

#### F-8

### 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：中田 雄一郎

(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

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 が形態形成及び分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<sup>fl/fl;K14Cre</sup>) を作成し解析したところ、p130Cas<sup>fl/fl;K14Cre</sup> 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。

まず p130Cas<sup>fl/fl;K14Cre</sup> マウスのエナメル質および象牙質における Ca、P、Mg 等のミネラル沈着を評価するために  $\mu$ CT 解析、EPMA 解析を行った。Ca、Mg 含有率は野生型と p130Cas<sup>fl/fl;K14Cre</sup> マウスで有意な差は認められなかったが、P の含有率が p130Cas<sup>fl/fl;K14Cre</sup> マウスのエナメル質で有意に低下していた。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<sup>fl/fl;K14Cre</sup> 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。

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-9

# 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と、更なる症例の発掘と疾患関連新規遺伝子変異の同定を目指し、以下の研究を行った。

- 1) *PSMB9* ヘテロ変異導入マウスの胸腺、脾臓、骨髄などの細胞分画解析と組織学的検討を行い、胸腺小葉形成不全に伴う T 細胞減少、脾臓濾胞形成不全に伴う T・B 細胞と樹状細胞の減少、骨髄の単球・好中球の増加を確認した。患者においても実際に血中ガンマグロブリンの低下を認め、リンパ球新生を示す TREC と KREC も異常低値であった。
- 2) *PSMB9* ヘテロ変異導入マウス背部にパンチで皮膚全層性潰瘍を作成し、治癒過程を肉眼的に評価したところ、対照と比べて創傷治癒の有意な遅延を認めた。
- 3) 大分大学小児科で中條－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

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。一方、川崎市立病院小児科の同様の症例について解析した結果、インターフェロン制御因子として知られる新規遺伝子 X に複合ヘテロ変異を見出した。

## 発表論文

1. 金澤伸雄：中條－西村症候群. *Visual Dermatology* 16: 128-132, 2017
2. 花見由華, 山本俊幸, 金澤伸雄, 三嶋博之, 木下晃, 吉浦孝一郎：エカルディ・グティエール症候群（家族性凍瘡様ループス）の父子例－当初中條－西村症候群を疑った症例. *Visual Dermatology* 16: 133-135, 2017
3. 稲葉豊, 国本佳代, 金澤伸雄, 古川福実：抗核抗体高値を伴った中條－西村症候群. *Visual Dermatology* 16: 141-143, 2017
4. 金澤伸雄：免疫不全症・自己炎症性疾患とハンセン病. *日本ハンセン病学会雑誌* 86: 107-113, 2017
5. 金澤伸雄：中條－西村症候群. *リウマチ科* 59: 1-7, 2018
6. 原知之, 金澤伸雄：凍瘡様皮疹を呈する自己炎症性疾患. *西日本皮膚科* 印刷中

## F-10

## 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作成を終えている。

今後、被ばく医療シミュレーションプログラムシナリオのパイロットテストおよび検証(川内村復興拠点)を行い、具体的トレーニングプログラムを作成し、評価を行う予定である(平成30年度)。

## 発表論文

平成29年度 なし

## F-11

## 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)

共同研究者：植松 大智

(静岡大学(大学院総合科学技術研究科)：大学院生)

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は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 の深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、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多次元的に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-12

## 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。これら 10 個の候補遺伝子についてキャプチャープローブを注文し、現在、メチル化異常を示す症例 85 例をシークエンス中である。

今後は、同定されたバリエーションをサンガー法で確認する。

## 発表論文

なし

## F-13

## 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・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・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

多発性骨髄腫においては骨髄間質細胞との接着によって抗がん剤耐性が誘導されるが、そのメカニズムについては不明の点が多い。本研究においては接着耐性獲得のエピジェネティック制御機構の解明を試みた。間質細胞との接着によって抗がん剤耐性が獲得される際に histone H3-lysine 27 (H3-K27) のトリメチル化が特異的に抑制されることがわかった。そこで H3-K27 メチル化酵素 EZH2 を siRNA または特異的阻害剤で抑制すると薬剤耐性が誘導された。ストローマ細胞との接着により IGF-1 受容体-PI3K-Akt 経路を介して EZH2 の serine-21 がリン酸化され、メチル化活性を失うことで抗がん剤抵抗性が獲得される。その際のエフェクター分子として、抗アポトーシス分子 Bcl-2・接着分子・サイトカイン (IGF-1, TGF- $\beta$ )・ABC トランスポーター・HIF-1 $\alpha$  などが考えられた。以上の結果は、多発性骨髄腫の接着耐性におけるエピジェネティック機構を明らかにした初めての報告である。IGF-1 受容体-PI3K-Akt 経路の阻害剤は接着耐性の解除に有効と考えられる。

## 発表論文

1. Kikuchi, J., Kuroda, Y., Koyama, D., Osada, N., Izumi, T., Yasui, H., Ichinohe, T. and Furukawa, Y.: Myeloma Cells Are Activated in Bone Marrow Microenvironment by the CD180/MD-1 Complex, which Senses Lipopolysaccharide. *Cancer Res.* 78: 1766-1778, 2018.
2. Kikuchi, J., Koyama, D., Wada, T., Izumi, T., Hofgaard, P.O., Bogen, B. and Furukawa, Y.: Phosphorylation-mediated EZH2 Inactivation Promotes Drug Resistance in Multiple Myeloma. *J. Clin. Invest.* 125: 4375-4390, 2015.

## F-14

## 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

## 研究組織

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：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

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」を受けた 40-74 歳の男性 18,506 人、女性 21,398 人のうち、平成 23 年度県民健康管理調査を受け血液検査データのある男性 9,780 人、女性 13,260 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) と白血球数との関係、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。結果は中央値で分けた白血球数高値群 (男性 6100 cells/ $\mu$ L 以上、女性 54000 cells/ $\mu$ L 以上) は有意に PTSD のオッズをあげた (性年齢調整オッズ比:1.10 (1.02, 1.17)  $P<0.001$  が、鬱指標の有無はこの関係に統計学的に有意な影響を示唆する結果は認められなかった ( $p$  for interaction =0.331)。今後は、さらに白血球分画データを用いて同様の検討を行うことにより、PTSD 発症における炎症関与のメカニズムの解明が可能と思われる。

## 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。

## F-15

## 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である子宮頸部異形成 (CIN) の管理において、癌化リスクの評価は重要な意味を持つ。現在推奨されている HPV ジェノタイプリ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) CIN 1 あるいは 2 の病変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】臨床応用に向けてデータの集積を図るとともに、論文を作成する。

#### 発表論文

現在作成中

#### F-16

### 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

(広島大学大学院分子内科学：教授)

共同研究者：実綿 慶

(広島大学大学院分子内科学：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：診療教授)

#### 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いる。本研究で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、その腫瘍進展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 を単回経気道投与することにより、転移性肺腫瘍組織における遺伝子抑制効果が確認された。さらに複数回 VEGF-siRNA 粉末製剤を経気道投与することにより抗腫瘍効果を得ることが確認された。VEGF-siRNA 粉末製剤は癌に対する新たな治療法となりうる。

今後は論文の投稿を行っていく予定である。

#### 発表論文

なし



## F-17

## 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：中田 雄一郎

(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

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- $\kappa$ B 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ーヤーである 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 flox 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-CreA20fl/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-CreA20fl/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、また Th2 分化における master regulator となる転写因子 GATA3 の発現が亢進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-18

## 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)

小林 知貴

(広島大学病院 総合内科・総合診療科：医科診療医)

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】細胞外マトリックスタンパクであるペリオスチンは組織修復過程など多くの現象に寄与し、様々な生理活性があることが解明されつつある。さらに、近年では組織硬化（線維化）を伴う癌腫において発現が亢進しており、腫瘍マーカーとしての有用性について期待されており、その一例として肝内胆管癌が挙げられる。肝内胆管癌ではペリオスチンの発現と予後に逆相関があることが報告されているものの、その詳細な役割や機序については解明されていない。本研究では、肝内胆管癌の上皮間葉転換（EMT）に着目して、ペリオスチンの癌細胞に与える影響について検討を行い、臨床における癌進展・転移の制御を目的とした基礎的知見の集積を目指した。

【研究成果】1) 肝内胆管癌（ICC）手術摘出検体の癌組織におけるペリオスチンの遺伝子発現は、非癌部に比較し有意に高く、間葉系マーカーの発現と有意な相関が認められた。2) 未分化 ICC 細胞株である HuH28 は、中分化 ICC 細胞株である HuCCT1 に比較して、遺伝子・蛋白レベルでペリオスチンおよび間葉系マーカーが高発現していた。3) HuH28 に対しペリオスチンの発現を抑制したところ、間葉系マーカーの発現低下および上皮系マーカーの有意な上昇が認められ、EMT と逆のプロセスが誘導されたことが示唆された。この変化に伴い、増殖能・浸潤能・遊走能においても、それぞれ有意な低下が認められ、ペリオスチンの発現抑制により癌細胞の生物学的悪性度が低下した。

【今後の展望】今回の検討により、ペリオスチンは EMT を介して ICC の生物学的悪性度に寄与しており、肝内胆管癌の治療戦略上のターゲットとなりうる分子である

可能性が示唆された。今後は線維化における役割の解明と治療応用を目指し継続して検討を行う。

#### 発表論文

Mino M, Kanno K, Okimoto K, Sugiyama A, Kishikawa N, Kobayashi T et al. Periostin promotes malignant potential by induction of epithelial-mesenchymal transition in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Hepatol Commun*. 2017 Oct 25;1(10):1099-1109.

#### F-19

#### センダイウイルス C タンパク質と複数の標的因子間の相互作用を阻害する化合物の探索

#### 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科：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

センダイウイルス (SeV) C タンパク質は、ウイルス病原性の発揮に重要であり、宿主転写因子 STAT1 に結合することで、インターフェロン (IFN)  $\alpha/\beta$  および IFN- $\gamma$  によるシグナル伝達を阻害する。また、ESCRT 関連因子 Alix に結合し、これを細胞質膜にリクルートすることで、ウイルス粒子の出芽を促進させる。C タンパク質とこれら標的因子 (STAT1 と Alix) 間の結合を阻害する化合物は SeV 阻害剤になりえる。これまでに東京大学創薬機構と共同研究を実施し、C タンパク質と Alix 間の結合を阻害する低分子化合物をいくつか取得した。次に、センサーチップ上に C タンパク質を固定させ、ビアコア解析を実施し、取得した化合物が C タンパク質と結合するかどうかを調べた。しかしながら、バックグラウンドが高く、ビアコア解析より、見出した化合物が C タンパク質に結合するかどうかを解析することは困難だった。そこで、C タンパク質に阻害剤を混ぜて結晶化を行い、X 線結晶構造解析を実施した。しかしながら、阻害剤に由来する電子密度を観測することができなかった。今後は、見出した C タンパク質と標的因子間の結合を阻害する化合物を培地に添加し、培養細胞に感染させた SeV の増殖が阻害されるかどうかを解析する。

#### 発表論文

なし

## F-20

## 緊急被ばく医療活動時における情報共有システム構築に関する研究

## 研究組織

共同研究代表者：貞森 拓磨

(広島大学救急集中治療医学:客員准教授)

共同研究者：志馬 伸朗

(広島大学救急集中治療医学：教授)

島谷 竜俊

(広島大学救急集中治療医学：大学院生)

京 道人

(広島大学救急集中治療医学：大学院生)

受入研究代表者：廣橋 伸之

(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

本年度は、緊急被ばく医療活動を行う際に必要な情報を、LPWA (Low Power Wide Area) を利用して取得できるプロトタイプシステムを構築し実証実験を行った。結果は、LPWA の親機、中継器、子機を用意し、子機からテキストおよび GPS 情報を送出し、中継器を経由して親機で受信を行い、Google Map 上に描出できることを確認した。また、子機、親機間で 12km の通信に成功しているの、通信可能な範囲は約 720km<sup>2</sup>(東京ドーム約 15400 個分)となる。中継器はドローンに搭載可能で、中継器の高度を上げることで、さらなる通信距離の延長が見込まれる。子機をドローンで運搬、目的地に投下することで、人が危険な個所に行けない場所や海上などモニタリングポストが常設されていない場所でも空間線量を計測することが可能となる。

現時点ではテキスト、GPS 情報のみでの実証であるが、今後は線量計からデータを抜き、線量値を GPS 情報に付加し情報を取得することで、広範囲地点の線量を確認しながら活動できるようにする。

## 発表論文

無し

## F-21

## 放射線による骨髄抑制における好中球の機能分化メカニズムの変動解明

## 研究組織

共同研究代表者：志馬 伸朗

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科：教授)

共同研究者：鳥越 勇佑

(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：廣橋 伸之

(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

低体温時の骨髄造血における変化と、好中球分化増殖動態をフローサイトメトリーを用いて検討した。好中球分化とそのメカニズムを明らかにするために、マウスを低体温で飼育する全身性モデル、およびマウス骨髄より採取した骨髄細胞を低体温を含む異なる環境下で培養する in vitro モデルを作成した。マルチカラーフローサイトメトリーによる好中球造血の解析：造血幹細胞から成熟好中球までを未分化細胞のマーカーと Ly-6G 好中球分化のマーカーで展開し、細胞集団を分類して好中球分化過程の観察を行った。低体温環境下では骨髄における成熟好中球の数が減少し、骨髄前駆細胞から成熟好中球に至る分化過程における細胞群の増加が認められた。低体温により好中球の分化及び成熟が遅延することが示唆された。現在、そのメカニズムに関する解析を継続している。

好中球は感染時の生体反応において抗菌作用、炎症および抗炎症など多彩な役割を発揮する重要な免疫細胞であり、放射線被ばくに伴う感染症を来した際の機能変化解明を通じて急性被ばく時の感染症病態生理についての理解を深めることにつながることを期待される。

## 発表論文

なし

## F-22

**iPS 細胞を用いた内耳再生研究へのゲノム編集技術の応用**

## 研究組織

共同研究代表者：大西 弘恵

(京都大学医学部付属病院：特定助教)

共同研究者：中川 隆之

(京都大学大学院医学研究科：講師)

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)

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

本研究では日本人口の 10% 以上に上る難聴患者に対する治療法を開発するため、疾患メカニズムの解析や創薬スクリーニングに用いるためのヒト iPS 細胞由来内耳モデルの作成を目指し、内耳分化誘導法の高効率化のための強力なツールとなる内耳細胞マーカーレポーターヒト iPS 細胞株の作成を行った。

受入研究者らが保有するゲノム編集技術と機材を活用し、CRISPR/Cas9 の系を利用して内耳細胞マーカー遺伝子と同調して GFP が発現するようなコンストラクトを相同組換えによりゲノム上に組み込んだレポーターヒト iPS 細胞を作製した。PCR およびシーケンス解析により、ホモおよびヘテロの組み換え体ヒト iPS 細胞が得られたことを確認し、これらの組換え体細胞で誘導後の細胞中に GFP 陽性細胞が出現することも確認できた。以上のことから、本研究によって分化誘導法の高効率化に使用可能な内耳細胞マーカーレポーターヒト iPS 細胞株が得られた。

今後は、このレポーターヒト iPS 細胞から内耳細胞の分化誘導過程において、小分子化合物や siRNA 等の添加因子の種類、量および添加時期などについて検討を重ね、内耳細胞分化誘導法の高効率化を行う。高効率な内耳細胞の分化誘導法が確立されれば、これをヒト iPS 細胞由来内耳モデルとして耳毒性を持つ薬物を添加して障害モデルを作成し、薬物による難聴等の発症メカニズムの解明と予防・治療薬のスクリーニングを行いたいと考えている。

## 発表論文

特になし

## F-23

**消化器癌に対する *circulation 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)

共同研究者：茶山 弘美

(広島大学消化器・医療人・大学教育センター：准教授)

益田 和彦

(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)

中村 耕樹

(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

＜目的＞転移性大腸癌の化学療法においては、血管新生阻害剤である抗 VEGF 抗体ベバシズマブを含む化学療法が標準治療である。しかし、効果予測に関するバイオマーカー、耐性機序、後治療に与える影響については、いまだに明らかではない。今回の研究で我々は ct-DNA の変化を分析することで転移性大腸癌に対する抗 VEGF 抗体の効果予測ができるか検討した。＜方法＞転移性大腸癌に対して化学療法を行った患者のうち 1 次療法から 2 次療法にかけてベバシズマブを 6 ヶ月以上投与した 21 症例において、ベバシズマブ投与前、治療中、耐性期に血漿を採取し、ct-DNA の変化を検討した。＜結果＞21 症例全ての症例で ct-DNA は検出できた。変異アレル比率は、治療中には低下し、耐性期には増加していた。また変異アレル比率は腫瘍量と弱い相関があるものの、腫瘍マーカー (CEA, CA19-9) には相関は認めなかった。治療中の変異アレル比率が、3% 未満に低下する症例は、予後が良好であった。また変異アレル比率が 3% 未満に低下しなかった症例のうち 2 例において、耐性期の血漿中に新規変異が低頻度で検出され、上記 2 症例では後治療で使用された抗 EGFR 抗体薬の治療効果も不良であった。＜今後＞進行大腸癌の症例においては十分な読み取り深度を確保したターゲットシーケンスを実施することで ct-DNA の検出が可能であり、ct-DNA は腫瘍マーカーと独立した因子で化学療法中

の変動は病勢の把握に有用であるといえる。今回は pilot study であり、今後は結果が大規模な研究で追試できるかを行う。特に抗 VEGF 抗体耐性症例に認めた治療抵抗性のクローンが抗 VEGF 抗体薬の耐性機序との関連について検討する。また、ct-DNA が大腸癌だけでなく、胃癌や食道癌の化学療法耐性のバイオマーカーになりうるか、早期段階の消化管癌でも ct-DNA が検出できるかを試みる。

#### 発表論文

Yamauchi M, Urabe Y, Ono A, Miki D, Ochi H, Chayama K. Serial profiling of circulating tumor DNA for optimization of anti-VEGF chemotherapy in metastatic colorectal cancer patients. *Int J Cancer*. 2018;142;7:1418-1426

#### F-24

### 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

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科：病院助教)

共同研究者：小武家 和博

(広島大学大学院医歯薬保健学研究科：大学院生)

一町 澄宜

(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：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

本研究は、二次性高血圧の原因であるアルドステロン産生腺腫におけるアルドステロン合成の分子メカニズムを in vitro で解明することを目的に、すでに自施設で同定した候補因子による詳細なアルドステロン合成機序の解明について、培養細胞を用いて検討を行った。本共同研究において、候補因子による、細胞内カルシウムシグナルへの関与が明らかになった。引き続き、別の候補因子での検討や、細胞への異なる作用機序への関与についても検討する予定である。

#### 発表論文

Kazuhiro Kobuke, Kenji Oki, Celso E. Gomez-Sanchez, Elise P. Gomez-Sanchez, Haruya Ohno, Kiyotaka Itcho, Yoko Yoshii, Masayasu Yoneda, Noboru Hattori. Calneuron 1 Increased  $\text{Ca}^{2+}$  in the Endoplasmic Reticulum and Aldosterone Production in Aldosterone-Producing Adenoma. *Hypertension*. 2018 Jan;71(1):125-133.



## F-26

## 脳腫瘍の WHO 診断のための臨床研究

## 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)

大西 俊平

(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。また、glioblastoma に関する論文を現在投稿準備中である。

## 発表論文

特になし

## F-27

## 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

(広島大学循環器内科：准教授)

共同研究者：小野原 優子

(広島大学循環器内科：研究補佐員)

徳山 丈仁

(広島大学循環器内科：クリニカルスタッフ)

元田 親章

(広島大学循環器内科：クリニカルスタッフ)

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

致死的不整脈である心室細動を起こすブルガダ症候群は、心筋ナトリウム (Na) チャネルからの Na 電流の低下により起こり、Na チャネル遺伝子  $\alpha$ subunit (SCN5A) に変異症例が多く報告されている。しかし、SCN5A に変異をもつブルガダ症候群が全症例の 20% 以下であることも明らかになった。またブルガダ症候群症例は、副交感神経が優位である時に心室細動発作を発症し、自律神経の変化が発作の発症に関与していることも明らかになっている。我々は、ブルガダ症候群症例において、L 型カルシウム (Ca<sup>2+</sup>) チャネルの補助蛋白である A キナーゼアンカータンパク (AKAP) 15 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<sup>2+</sup> チャネルに結合する部位である Leucin Zipper Motif に存在した。今回の目的は、かかる 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。

- ① ブルガダ症候群、QT 延長症候群、特発性心室細動症例において AKAP15 の変異の有無を検索した。
- ② AKAP15 の mutant と wild type を L 型 Ca<sup>2+</sup> チャネルと共に HEK に共発現させて、 $\beta$  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<sup>2+</sup> 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て観察する。

## 結果

- ① ブルガダ症候群、QT 延長症候群、特発性心室細動症例において AKAP15 の変異を持つ人は今のところ他に見つからず、一人のみだった。

- ② AKAP15 の当遺伝子変異による、チャネルの分布に差は認めなかった。
- ③ 今後、Ca 動態の検討予定。

#### 発表論文

### F-28

#### 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

(広島大学心臓血管生理医学教室：教授)

共同研究者：小久保 博樹

(広島大学心臓血管生理医学教室：講師)

Batmunkh Bumdelger

(広島大学心臓血管生理医学教室：助教)

藤井 雅行

(広島大学心臓血管生理医学教室：医学科学生)

鎌田 諒

(広島大学心臓血管生理医学教室：大学院生)

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、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、Angiotensin (Ang) II receptor Blocker (ARB) 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を *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 ARB 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ている。血管平滑筋細胞の培養系において、AngII が直接結合する I 型受容体 (AT1R) からのシグナルを如何にして抑制するのか、検討を重ねている。

また、ApoE-KO マウスに系において AngII を継続投与する系を、*Opg* 遺伝子の欠損 (KO) マウスに (7～8 週齢) を適用した場合についても、その発症メカニズムについて検討を進めている。

#### 発表論文

## F-29

AMPK 活性化と GSK 3 $\beta$  阻害による肝癌  
制御の基礎検討

## 研究組織

共同研究代表者：玉田 陽子

(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科：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

通常培養条件下、微小環境変化（低酸素、高血糖・高インスリン、肝細胞増殖因子存在、分枝鎖アミノ酸欠乏状態等）条件下における、肝細胞のエネルギー代謝であるミトコンドリア呼吸系と解糖系のバランス、ワールブルグ効果の程度を、細胞外フラックスアナライザー XF を用いて解析を行った。その結果、肝癌細胞は通常状態において、すでに解糖系優位の代謝状態にあり、低酸素条件下ならびに高血糖・高インスリン培養条件下では、HIF-1 の誘導に一致して、さらに解糖系優位な代謝状態にシフトすることが確認された。また、この時に、AMPK のキナーゼ活性が時間依存性に抑制されることが明らかとなった。さらに、AMPK 活性化薬剤であるメトホルミンの添加により、解糖系優位にシフトした代謝状態が通常培養条件下に戻る傾向にあることも観察された。低酸素条件下ならびに高血糖・高インスリン培養条件下で誘導される上皮間葉移行関連遺伝子発現もメトホルミンの添加により抑制されることが確認された。一方、肝細胞増殖因子添加、分枝鎖アミノ酸欠乏状態では肝癌細胞の代謝状態の変化は軽微なものにとどまった。GSK3 $\beta$  活性に関しては、低酸素条件下ならびに高血糖・高インスリン培養条件下で AMPK 活性と相反し、活性が増強される傾向にあることが観察されたが、その程度は弱く、現在再検討中である。GSK3 $\beta$  阻害剤に関する実験も現在実施中である。

## 発表論文

なし

## F-30

褐色脂肪細胞分化におけるエピジェネ  
ティック調節機構の解明

## 研究組織

共同研究代表者：大野 晴也

(広島大学分子内科学：助教)

共同研究者：長野 学

(広島大学分子内科学：大学院生)

森田 好美

(広島大学分子内科学：大学院生)

江草 玄太郎

(広島大学分子内科学：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

褐色脂肪細胞はエネルギーを散逸する機能を持ち、肥満症や糖尿病などへの治療応用が期待されている。また、白色脂肪細胞中に誘導される褐色脂肪様細胞はいわゆる古典的な褐色脂肪細胞とは異なる性質を持ち、ベージュ脂肪細胞と呼ばれている。褐色脂肪細胞とベージュ脂肪細胞の分化および機能維持には転写因子である PRDM16 が重要な役割を果たしているが、その詳細なメカニズムが不詳である。

ベージュ脂肪細胞は、分化刺激の消失とともにその機能を急速に失い白色脂肪細胞へと変化する。白色脂肪細胞へと形質が変化するメカニズムを検討する目的で RNA-seq を行った。Pathway 解析では PPARsignalling の変化が大きく、また転写因子 PPAR $\alpha$  の低下が認められた。そこで PPAR $\alpha$ agonist をベージュ脂肪細胞へ加えたところ、その細胞機能が維持された。

今後は PRDM16 や PPAR $\alpha$  などの転写因子群がどのように褐色脂肪細胞分化へ関与していることを調べる目的で ChIP-seq で網羅的に検討する。

## 発表論文

なし

## F-31

## 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

(国立がん研究センター鶴岡連携研究拠点：チームリーダー)

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。また、比較のため、MLL キメラ遺伝子を持っていない細胞においても同様の解析を並行して行った。我々は、これまでに 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、広島大学の次世代シーケンサーを用いて行った。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。平成 29 年度には上述の共作用因子以外にゲノム上で共局在する因子を探索し、いくつかの候補タンパク質を見出した。我々は広島大学との共同研究によってこれまでに多くの ChIP-seq データを蓄積してきているため、新たなタンパク質の作用機序を調べる上で、様々なヒストン修飾、DNA 修飾、転写関連因子の局在と比較することで、相互の関連性を推論することができるようになった。このため、新しく転写関連因子の機能を研究する上で大変有用なプラットフォームになっている。我々はこれまでに MLL キメラは白血病を発症させる白血病関連遺伝子である HOXA9 や MEIS1 のプロモーター上に局在し、転写を活性化していることを確認している。HOXA9 や MEIS1 は白血病の発症に重要な役割を果たす転写因子である。そこで、次に HOXA9 や MEIS1 の ChIP-seq 解析を行った。現在、得られた ChIP-seq データを元に HOXA9 や MEIS1 の作用機序について解析している。今後、MLL キメラや HOXA9/MEIS1 が働く分子メカニズムを明らかにすることで、新たな創薬標的の発見等につながっていくと期待される。

## 発表論文

なし

## F-32

## 遺伝子発現誘導系の確立

## 研究組織

共同研究代表者：藤井 輝久

(広島大学病院輸血部：准教授)

共同研究者：石田 誠子

(広島大学病院輸血部：医科診療医)

井上 暢子

(広島大学病院輸血部：医科診療医)

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、発がんを誘導する新たな遺伝子の同定と細胞内での働きを明らかにするための実験系をつくることを目的とする。現在、条件設定の段階であり、成果はまだ得られていない。

今後も、細胞、ベクター、導入方法、培養方法、発現方法などを変えて試す予定である。

## 発表論文

なし

## F-33

インテグリン $\alpha 9\beta 1$ のリガンドスクリーニング

## 研究組織

共同研究代表者：横崎 恭之

(広島大学保健管理センター：准教授)

共同研究者：伊藤 益美

(広島大学保健管理センター：研究員)

西道 教尚

(広島大学保健管理センター：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

本研究課題は、インテグリン $\alpha 9\beta 1$ と新規リガンド分子である $\alpha$ -synucleinとの分子間の相互作用をBiacoreXを用いて確認すること、および、他の新規リガンドをスクリーニングして同定することを目的としている。具体的には、可溶型インテグリン $\alpha 9\beta 1$ (インテグリン $\alpha$ 、 $\beta$ 両サブユニットが細胞質ドメインを欠損したりコンピナント蛋白)をセンサーチップにコートし、 $\alpha$ -synucleinおよび他の新規リガンド候補分子との相互作用を確認する。

本研究課題が採択通知を受けた矢先の12月にBiacoreXが使用不能の状態に陥るという不幸に見舞われたが、今日までに、既にインテグリン $\alpha 9\beta 1$ との相互作用(Nishimichi N, et al. 2009)が報告されている重合型オステオポンチンとの相互作用を確認できており、BiacoreXの取り扱いに関する動作的な不安を解消できている。 $\alpha$ -synucleinとの相互作用の確認にはさらなる条件検討が必要であることが、既に終えた予備試験で明らかとなっており、来年度は条件を最適化した後に本試験を行い、その相互作用について明らかにする予定である。

## 発表論文

なし

## F-34

## 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)

岡 尚宏

(近畿大学医学部：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

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、およびその後、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細胞から、各培養条件下で抽出したRNAを用いて、遺伝子発現の変化を解析した。解析結果より低グルコース下での生存に関わる複数のパスウェイが候補としてあげられた。現在これらの関与について検証を進めている。

## 発表論文

なし



## F-35

## アトピー性皮膚炎由来黄色ブドウ球菌と自然免疫の解析

## 研究組織

共同研究代表者：岩本 和真

(広島大学皮膚科：助教)

共同研究者：三宅 瑠

(広島大学医学部医学科：学生)

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

本研究では、S.a (標準株 NCTC8325) と S.a (AD 株 TF3378) を用いて、S.a が皮膚表面で接着する皮膚ケラチノサイトに及ぼす自然免疫応答について解析を行った。AD 株が標準株と異なり、ケラチノサイトに対して異なる形態学的な性質 (細胞内への内在化) を持つことが明らかになった。

今後は、培養上清およびケラチノサイトを経時系列で回収し、S.a (標準株) と S.a (AD 株) のケラチノサイトにおける局在を免疫染色法で探索し、OperaPhenix を用いて定量的な検討を行う。また、バリア機能異常がそれらに与える影響についても検討を行う。

## 発表論文

Iwamoto K, Moriwaki M, Niitsu Y, Saino M, Takahagi S, Hisatsune J, et al. Staphylococcus aureus from atopic dermatitis skin alters cytokine production triggered by monocyte-derived Langerhans cell. *J Dermatol Sci* 2017;88(3):271-9.



## 《付 録》



**【平成29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拠点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 年度に設置されました。

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 拠点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
- ⑥ RI 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 29 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。

ただし、本ネットワーク型拠点を構成する 3 拠点機関に所属する研究者は、申請資格がありません。

**\* 研究期間**

平成 29 年 4 月 1 日から平成 30 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本ネットワーク型拠点の受入研究者（教授、准教授、講師及び助教）と打ち合わせたうえで、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）

所属機関長の承諾書（様式 2）

※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

#### \* 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 29 年 1 月 31 日（火）

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、研究開始前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・機器等を管理する拠点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、20 万円を上限として共同研究費（旅費を含む）を配分します。自由研究課題や締切日を過ぎて申請された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は、配分の審査対象になりませんので、ご留意願います。

#### \* 共同研究開始後の変更

共同研究開始後に、共同研究代表者の所属・連絡先が変更になった場合や、共同研究者を追加する場合は、次の書類を作成し、拠点本部事務局までメールで提出してください。

共同利用・共同研究変更届（様式 3）

拠点本部事務局アカウント housai@hiroshima-u.ac.jp

#### \* 成果報告書

研究期間終了時に研究状況等を記載した「成果報告書」を研究代表者または受入研究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 30 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**

利用希望設備機器等の利用にあたっては、ネットワーク型拠点の各拠点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**

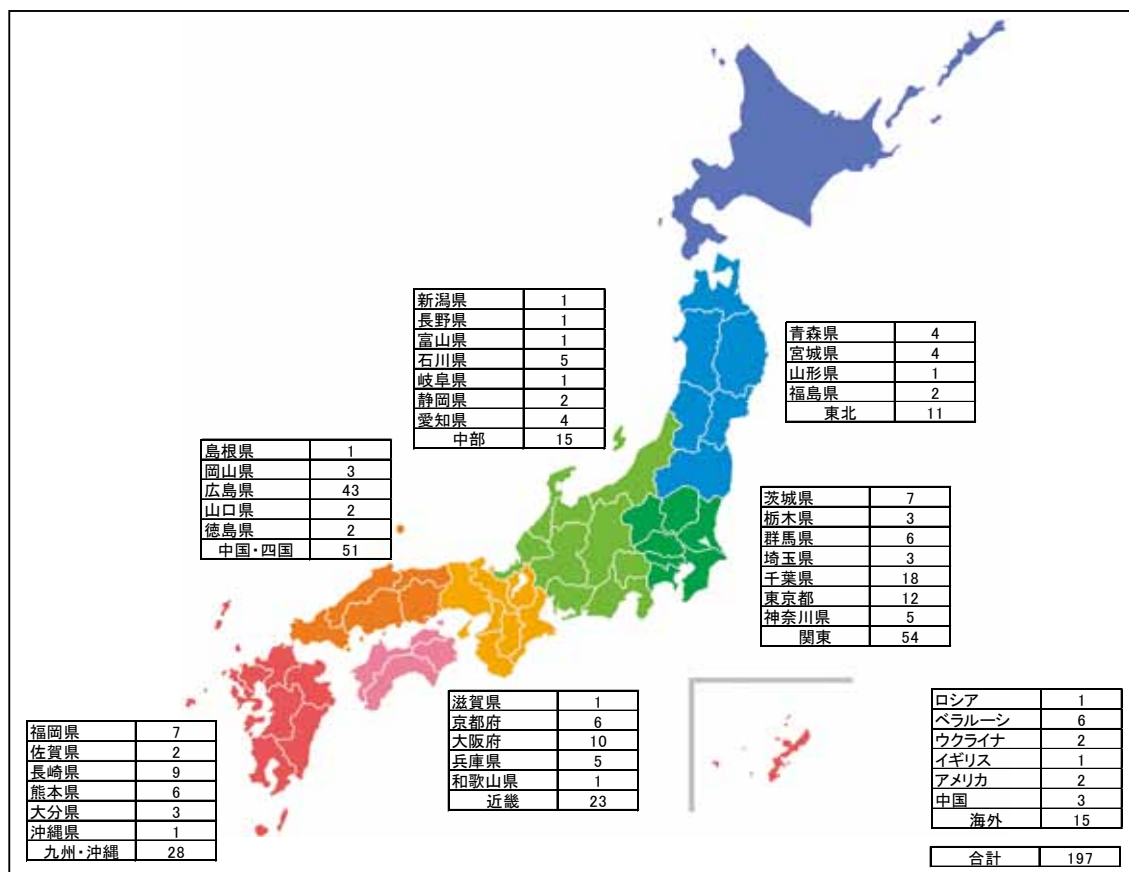
〒 734-8553 広島市南区霞一丁目 2 番 3 号  
広島大学霞地区運営支援部  
研究支援グループ（拠点本部事務局）  
082-257-5186

**長崎大学**

〒 852-8523 長崎市坂本 1 丁目 12 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  
024-547-1794

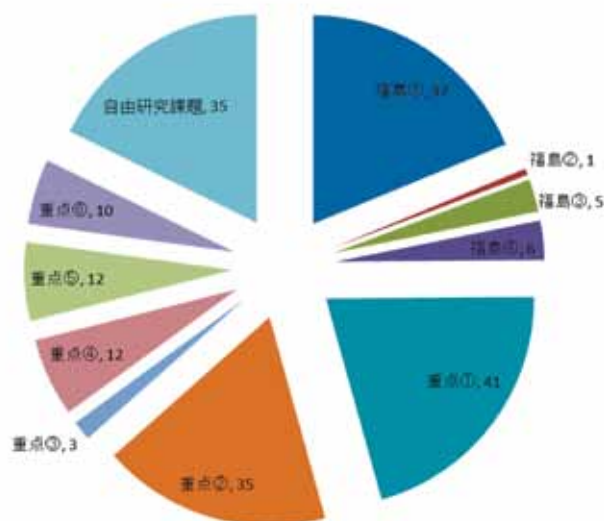


## 福島原発事故対応プロジェクト課題

- 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



## Ⅱ．平成29年度トライアングルプロジェクト



# 目次

|                             |     |
|-----------------------------|-----|
| 平成 29 年度トライアングルプロジェクト採択一覧   | 181 |
| 平成 29 年度トライアングルプロジェクト研究成果報告 |     |
| 低線量被ばく影響とリスク研究              | 189 |
| 放射線障害医療                     | 217 |
| 放射線災害の社会影響と放射線防護            | 269 |
| 《付録》                        |     |
| トライアングルプロジェクトについて           | 291 |





## 平成29年度トライアングルプロジェクト採択一覧



## 平成29年度 トライアングルプロジェクト採択一覧

| 申請研究名称 | 研究者 | 研究者所属 | 協力者 |
|--------|-----|-------|-----|
|--------|-----|-------|-----|

### (テーマ1) 低線量被ばく影響とリスク研究

|                                             |                 |          |      |
|---------------------------------------------|-----------------|----------|------|
| 医療放射線被ばくの人体影響評価                             | 岡田 守人           | 広島大学     | なし   |
|                                             | 田代 聡            | 広島大学     |      |
|                                             | 工藤 崇            | 長崎大学     |      |
|                                             | 石田 隆史           | 福島県立医科大学 |      |
|                                             | 竹石 恭知           | 福島県立医科大学 |      |
| 低 LET と高 LET の RI 内用治療が正常組織機能に及ぼす影響に関する基礎研究 | 工藤 崇            | 長崎大学     | なし   |
|                                             | 趙 松吉            | 福島県立医科大学 |      |
| 低線量 $\alpha$ 線照射と細胞性免疫が細胞の生存能に及ぼす影響に関する研究   | 西 弘大            | 長崎大学     | なし   |
|                                             | 織内 昇            | 福島県立医科大学 |      |
| CT 検査による放射線被ばくの染色体への影響解析と生物学的線量評価           | 稲葉 俊哉           | 広島大学     | 野地秀義 |
|                                             | 坂井 晃            | 福島県立医科大学 |      |
| 組織幹細胞動態を基軸としたモデル動物における線量率効果の研究              | 大野 芳典           | 広島大学     | なし   |
|                                             | 河合 秀彦<br>(8月まで) | 広島大学     |      |
|                                             | 笹谷めぐみ           | 広島大学     |      |
|                                             | 本庶 仁子           | 広島大学     |      |
|                                             | 鈴木 啓司           | 長崎大学     |      |
|                                             | 大津留 晶           | 福島県立医科大学 |      |

| 申請研究名称                                           | 研究者   | 研究者所属    | 協力者                                 |
|--------------------------------------------------|-------|----------|-------------------------------------|
| 低線量率・低線量放射線被ばくによるゲノム変異の分子機序解明                    | 孫 継英  | 広島大学     | なし                                  |
|                                                  | 鈴木 啓司 | 長崎大学     |                                     |
|                                                  | 緑川 早苗 | 福島県立医科大学 |                                     |
| 福島県における小児甲状腺がん発症者の末梢血リンパ球を用いた転座型染色体解析による生物学的線量評価 | 松浦 伸也 | 広島大学     | 石川徹夫 大平哲也<br>佐藤真紀 鈴木 聡<br>鈴木真一 細矢光亮 |
|                                                  | 宮本 達雄 | 広島大学     |                                     |
|                                                  | 坂井 晃  | 福島県立医科大学 |                                     |
| ゲノム編集法を用いた放射線感受性細胞の作製と解析                         | 川上 秀史 | 広島大学     | なし                                  |
|                                                  | 松浦 伸也 | 広島大学     |                                     |
|                                                  | 宮本 達雄 | 広島大学     |                                     |
|                                                  | 吉浦孝一郎 | 長崎大学     |                                     |
| Mn-56 低線量内部被曝の生物学的影響とその障害メカニズムの解析                | 藤本 成明 | 広島大学     | 星 正治 高辻俊之                           |
|                                                  | 七條 和子 | 長崎大学     |                                     |
|                                                  | 中島 正洋 | 長崎大学     |                                     |

(テーマ2) 放射線障害医療

|                                                          |       |          |    |
|----------------------------------------------------------|-------|----------|----|
| 放射線照射後のヒト細胞における DNA 二本鎖切断の正確な修復を促進するシステムの解明              | 堀越 保則 | 広島大学     | なし |
|                                                          | 山内 基弘 | 長崎大学     |    |
| $\alpha$ 線放出核種アスタチン (211At) による細胞死誘導効果ならびに細胞増殖抑制効果の基礎的研究 | 西 弘大  | 長崎大学     | なし |
|                                                          | 織内 昇  | 福島県立医科大学 |    |

| 申請研究名称                         | 研究者   | 研究者所属    | 協力者                    |
|--------------------------------|-------|----------|------------------------|
| 固形がんに対する包括的癌免疫療法の開発            | 一戸 辰夫 | 広島大学     | 河野浩二 斎藤 清<br>鈴木弘行 長井一浩 |
|                                | 大戸 齊  | 福島県立医科大学 |                        |
|                                | 鈴木 義行 | 福島県立医科大学 |                        |
| 低酸素応答シグナルと放射線障害医療              | 谷本 圭司 | 広島大学     | なし                     |
|                                | 李 桃生  | 長崎大学     |                        |
|                                | 鈴木 義行 | 福島医科大学   |                        |
| 被爆者腫瘍組織バンクを用いた重複癌発症リスクの包括的解析   | 山口 泉  | 長崎大学     | 江口 晋 鈴木義行              |
|                                | 伊藤 浩  | 福島医科大学   |                        |
| 動物モデルを用いた甲状腺癌の研究               | 藤本 成明 | 広島大学     | なし                     |
|                                | 永山 雄二 | 長崎大学     |                        |
|                                | 松山 睦美 | 長崎大学     |                        |
| 放射線障害に起因する移植後合併症の予防法の開発        | 川瀬 孝和 | 広島大学     | 坂井 晃                   |
|                                | 池添 隆之 | 福島県立医科大学 |                        |
| 緊急被ばくに対する再生医療体制の確立             | 東 幸仁  | 広島大学     | なし                     |
|                                | 李 桃生  | 長崎大学     |                        |
|                                | 石田 隆史 | 福島県立医科大学 |                        |
|                                | 竹石 恭知 | 福島県立医科大学 |                        |
| 急性放射線障害に対するヒト胎盤系間葉細胞治療に関する基礎研究 | 山下 俊一 | 長崎大学     | 添田義行                   |
|                                | 稲野 彰洋 | 福島県立医科大学 |                        |



| 申請研究名称             | 研究者             | 研究者所属 | 協力者 |
|--------------------|-----------------|-------|-----|
| 放射線誘発 MDS の発症機序の解明 | 一戸 辰夫           | 広島大学  | なし  |
|                    | 稲葉 俊哉           | 広島大学  |     |
|                    | 本田 浩章<br>(6月まで) | 広島大学  |     |
|                    | 中田雄一郎<br>(7月から) | 広島大学  |     |
|                    | 宮崎 泰司           | 長崎大学  |     |

(テーマ3) 放射線災害の社会影響と放射線防護

|                                                                                                    |       |          |      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|----------|------|
| 原爆被爆者の手記を利用したテキスト解析による被爆の実像解明                                                                      | 佐藤 健一 | 広島大学     | なし   |
|                                                                                                    | 横田 賢一 | 長崎大学     |      |
| 広島・長崎・福島における放射線被ばく者コホートによる健康影響の解明                                                                  | 佐藤 健一 | 広島大学     | なし   |
|                                                                                                    | 横田 賢一 | 長崎大学     |      |
| 住民の行動データに基づく線量再構築における不確かさの要因の洗い出しと定量化に関する研究                                                        | 保田 浩志 | 広島大学     | なし   |
|                                                                                                    | 石川 徹夫 | 福島県立医科大学 |      |
| 放射線災害発生直後の初期被ばくを正確に把握するために必要な線量評価の体制構築に関する研究                                                       | 保田 浩志 | 広島大学     | なし   |
|                                                                                                    | 松田 尚樹 | 長崎大学     |      |
|                                                                                                    | 大津留 晶 | 福島県立医科大学 |      |
| 研究機関における原爆被ばく学術資料の基礎研究                                                                             | 久保田明子 | 広島大学     | なし   |
|                                                                                                    | 高村 昇  | 長崎大学     |      |
| Addressing health consequences after nuclear power plant accidents: critical reviews and proposals | 神谷 研二 | 広島大学     | 大葉 隆 |
|                                                                                                    | 高村 昇  | 長崎大学     |      |
|                                                                                                    | 谷川 攻一 | 福島県立医科大学 |      |

# 平成29年度トライアングルプロジェクト 研究成果報告



## 医療放射線被ばくの人体影響評価

## 研究組織

拠点機関研究者：田代 聡（広島大学原爆放射線医科学研究所：教授）

岡田 守人（広島大学原爆放射線医科学研究所：教授）

工藤 崇 (長崎大学原爆後障害医療研究所：教授)

竹石 恭知（福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授）

石田 隆史（福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授）

## 研究目的

日本人の平均被ばく量のおよそ3分の2が放射線診断と放射線治療などの医療行為による被ばくであることは広く知られている。医療放射線被ばくは医学上のベネフィットがある被ばくであるが、リスクもあることは否定できない。このため、医療放射線被ばくのリスクを定量的に評価する必要がある。しかし、医療放射線被ばくのリスクは、いまだ不明な点が多い。そこで、本研究では、放射線診断(CT、FDG PET/CT、心臓カテテル検査)や放射線治療などの医療放射線被ばくに伴うゲノム障害の定量的解析を行う。医療放射線被ばくの人体影響の定量的評価法の確立から、放射線感受性の個人差の解明や放射線治療の副作用予測など臨床応用を目指す。

### 研究实施内容

- 1) 胸部CTによる放射線被ばくの影響評価 PNAプローブを用いたFISH法による染色体解析

価：肺がんフォローアップ症例について、胸部CT検査の前後で採取した末梢血単核球のPNAプローブを用いたFISH法による染色体解析、リン酸化ヒストンH2AXフォーカスの検出によるDNA損傷解析を行い、胸部CTによる放射線被ばくの影響を評価する。



The figure displays four fluorescence microscopy images of chromosome spreads. The top-left image is labeled 'blockstain' and shows a blue-stained chromosome spread with several red and green fluorescent foci. The top-right image is labeled 'H2AXfoci' and shows a green-stained chromosome spread with several red fluorescent foci. The bottom-left image is labeled 'Graft-133454' and shows a red-stained chromosome spread with several blue and green fluorescent foci. The bottom-right image is labeled 'Graft-133454' and shows a blue-stained chromosome spread with several red and green fluorescent foci. Each image has a small inset box in the top right corner.

- 1) 末梢血リンパ球の48時間培養
- 2) メタフェーズサンプル作成
- 3) FISH法によるセントロメアとテロメアの可視化
- 4) 解析

利点: 早い、解析が簡単

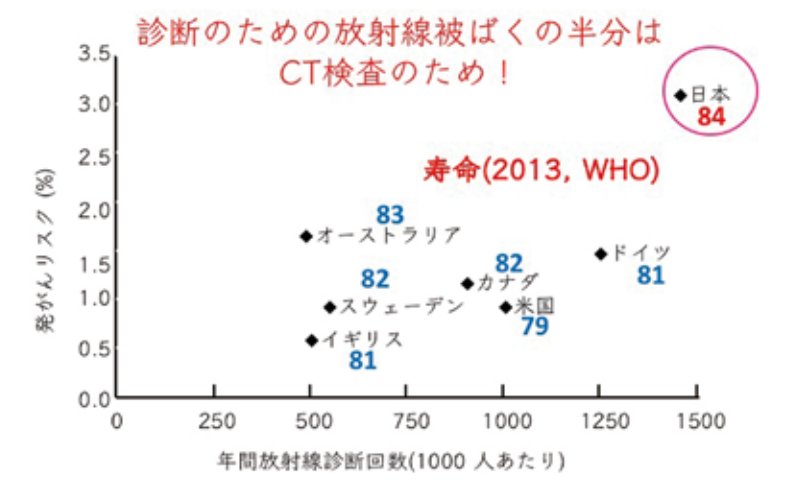
欠点: 数十円

二動原体    三動原体    環状染色体

- 2) FDG PET/CT による放射線被ばく

の影響評価：放射線治療前のFDG PET/CT受診者を対象として、医療放射線による染色体解析、DNA損傷解析を行い、放射線被ばくの影響評価を行う。

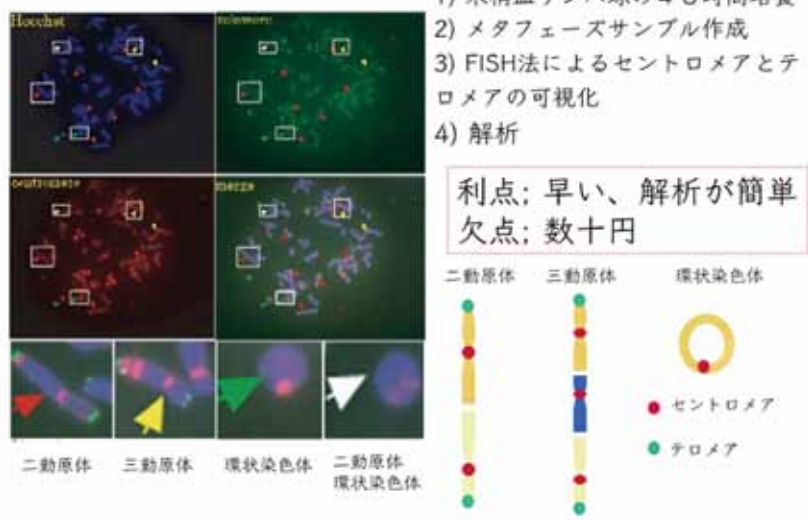
診断用医療被ばくに起因する発がんのリスク



Berrington de Gonzalez A *et al.* Lancet (2004) 363:345-351から改変

### PNAプローブを用いたFISH法による染色体解析

- 1) 末梢血リンパ球の48時間培養
- 2) メタフェーズサンプル作成
- 3) FISH法によるセントロメアとテロメアの可視化
- 4) 解析



利点: 早い、解析が簡単  
欠点: 数十円

二動原体      三動原体      環狀染色體

● セントロメア

● テロメア

3) 甲状腺がん転移治療の放射線被ばくの影響評価：ヨウ素-131 大量投与による甲状腺がん転移治療患者（投与量3～5 GBq）について、染色体解析、DNA 損傷解析を行い、放射線被ばくの影響評価を行う。

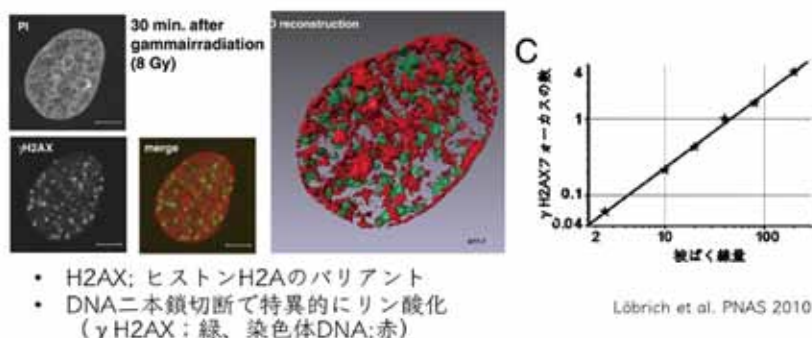
4) 心臓カテーテル検査における放射線被ばくの影響

結果：冠動脈造影／経皮的冠動脈形成術を受けた患者および術者において、末梢血単核球内の DNA 損傷量をリン酸化ヒストン H2AX フォーカスの検出により検討する。

5) DNA 損傷定量による心血管疾患のリスクマーカー確立の試み：心血管疾患症例について、末梢血単核球内の DNA 損傷量をリン酸化ヒストン H2AX フォーカスなどのゲノム損傷因子の定量的解析により検討し、リスクマーカーとしての有用性を検討する。

6) 小児がんサバイバーにおける DNA 損傷定量—心血管合併症との関連の検討：小児がんサバイバーの末梢血単核球内の DNA 損傷量をリン酸化ヒストン H2AX フォーカスなどのゲノム損傷因子の定量的解析により検討し、心血管合併症との関連を検討する。

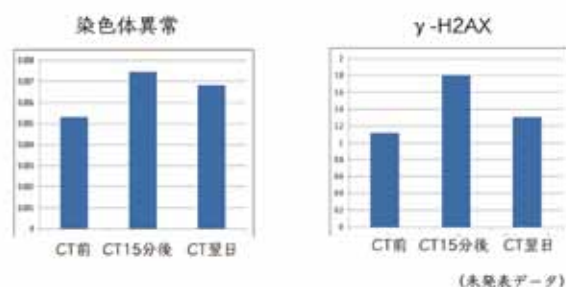
## リン酸化ヒストンH2AXを用いたDNA損傷の可視化



## 今後の展望

これまでの試験的研究の結果、現在の解析手法を用いて CT 検査後に染色体異常とリン酸化ヒストン H2AX フォーカスは増加が検出可能であることが確認されている。さらに、検査翌日の検体では、染色体異常は変化しないが、DNA 損傷は修復されていることも確認できている。現在、これらの解析法を用いて、一部のプロジェクトでは症例数の蓄積を行っている。さらに、一部のプロジェクトでは倫理委員会への申請などプロジェクトを開始するための準備を進めている。

## CT検査によるDNA損傷



## 発表論文

DNA damage in lymphocytes induced by cardiac CT and comparison with physical exposure parameters.

Fukumoto W, Ishida M, Sakai C, Tashiro S, Ishida T, Nakano Y, Tatsugami F, Awai K.

Eur Radiol. 2017 Apr;27(4):1660-1666.

## 学会発表

Takafumi Ishida: DNA damage as a biological marker for health effects of low dose radiation from medical imaging, The 2nd International Symposium of the Network-type Joint Usage/Research Center for Radiation Disaster medical Science, Feb. 4th, 2018.

Satoshi Tashiro: Clinical application of biodosimetry techniques, The 2nd International Symposium of the Network-type Joint Usage/Research Center for Radiation Disaster medical Science, Feb. 4th, 2018.

## その他（特許申請，新聞等広報，受賞，特記事項等）

なし

# 低 LET と高 LET の RI 内用治療が 正常組織機能に及ぼす影響に関する基礎研究

## 研究組織

拠点機関研究者：工藤 崇（長崎大学原爆後障害医療研究所：教授）

趙 松吉（福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授）

## 研究目的

RI 内用療法の特徴として、 $\beta$  線放出または  $\alpha$  線放出する核種で標識した化合物が病変組織または腫瘍細胞に特異的発現する分子・受容体に特異的結合することで、病変細胞または腫瘍細胞に障害をもたらして、治療効果を発揮する。また  $\beta$  線は低線エネルギー付与（低 LET）、 $\alpha$  線は高線エネルギー付与（高 LET）特徴を有するため、 $\beta$  線と  $\alpha$  線が組織への影響は異なる。組織中での  $\beta$  線または  $\alpha$  線の飛程が短いため、病変周囲組織への影響が少なく、副作用が小さいと考えられている。しかし、標的以外の正常組織に及ぼす  $\beta$  線または  $\alpha$  線の影響に関する動物実験は少なく、特に各臓器機能に対する長期的な影響に関する詳細なデータは乏しい。本研究では、 $\beta$  線放出（例えば Lu-177）または  $\alpha$  線放出（例えば At-211）核種で標識した化合物が正常マウスの各組織機能に及ぼす影響を検討することを目的とする。

## 研究実施内容

本年度ではがん治療を目的とする  $\alpha$  線による抗腫瘍効果や安全性の基礎となる  $\alpha$  線核種標識化合物の体内分布の評価に関する基本的なデータとして、 $\alpha$  線核種アスタチン 211 ( $^{211}\text{At}$ ) の正常マウスまたは担癌モデルマウスにおける I-125 標識 CD82 モノクローナル抗体 ( $^{125}\text{I}$ -CD82) の体内動態を解析した。イソフルラン麻酔下で正常マウス (n=25) に  $^{211}\text{At}$  を 0.150 ~ 0.170 MBq 投与し、投与 5 分、1 時間、3 時間、6 時間、24 時間（各群 n= 5）後にイソフルラン麻酔下でマウスを屠殺し、主要な臓器を摘出して重量と放射能を測定した。また担癌モデルマウス (n= 4) に  $^{125}\text{I}$ -CD82 を 0.38 MBq 投与し、投与 6 時間後に腫瘍と主要な臓器を摘出して重量と放射能を測定した。臓器の  $^{211}\text{At}$  または  $^{125}\text{I}$ -CD82 分布は、投与量に対する臓器 1 g 当たりの集積量 (%) である %ID/g で表した。

その結果、血液、血漿、心臓、脾臓、膵臓、小腸、大腸、腎臓、副腎、肝臓、骨や褐色脂肪への At-211 集積は時間とともに減少した。胃、精巣への At-211 集積は 1 時間と 3 時間で最も高く、その後時間とともに減少した。顎下腺では投与 6 時間群でもっとも高い集積を示した。甲状腺への At-211 集積 (% ID) は時間とともに増加した。筋肉、白色脂肪、脳では低い At-211 集積を示した。

$^{125}\text{I}$ -CD82 投与 6 時間後、腫瘍は筋肉より顕著な高い集積を示した。しかし  $^{125}\text{I}$ -CD82 投与 6 時間後、血液の集積は高く、クリアランスが遅いことが示された。

## 今後の展望

正常マウスまたは CD82 を高発現するヒト急性白血病担癌モデルマウスに  $^{211}\text{At}$  または  $^{211}\text{At}$  標識化合物、例えば、抗 CD82 抗体 ( $^{211}\text{At}$ -CD82) を投与し、正常組織への影響について、長期観察を行う予定である。特に  $^{211}\text{At}$  標識化合物の治療による抗腫瘍効果が表れた際の正常組織への影響を明らかにする予定である。

## 発表論文

1. Yamasaki K, Yamashita A, Zhao Y, Shimizu Y, Nishii R, Kawai K, Tamaki N, Zhao S, Asada Y, Kuge Y. In vitro uptake and metabolism of [ $^{14}\text{C}$ ] Acetate in rabbit atherosclerotic arteries: Biological basis for atherosclerosis imaging with [ $^{11}\text{C}$ ] Acetate. Nucl Med Biol 56(8):21-25, 2017
2. Masaki Y, Shimizu Y, Yoshioka T, Nishijima KI, Zhao S, Higashino K, Numata Y, Tamaki N, Kuge Y., FMISO accumulation in tumor is dependent on glutathione conjugation capacity in addition to hypoxic state., Ann Nucl Med 31(8):596-604, 2017



3. Yu W, Zhao S, Zhao Y, Fatema CN, Murakami M, Nishijima K, Kitagawa Y, Tamaki N, Kuge Y. Changes in tumor oxygen states after sorafenib therapy evaluated by  $^{18}\text{F}$ -fluoromisonidazole hypoxia imaging in a renal cell cancer xenograft. *Oncol Lett* 14(8):2341-2346, 2017
4. Maejima Y, Horita S, Kobayashi D, Aoki M, Ohashi R, Imai R, Sakamoto K, Takasu K, Ogawa K, Takenoshita S, Zhao S, Hazama A, Shimomura K. Nesfatin-1 inhibits voltage gated  $\text{K}^+$  channels in pancreatic beta cells. *Peptides*. 95(9):10-15, 2017
5. Oshima N, Akizawa H, Kitamura H, Kawashima H, Zhao S, Zhao Y, Nishijima K, Kitamura Y, Arano Y, Kuge Y, Ohkura K.  $^{111}\text{In}$ -DTPA-DPhe1-octreotide exhibits higher tumor accumulation and lower renal radioactivity than  $^{111}\text{In}$ -DTPA-D-Phe1-octreotide. *Nucl Med Biol*. 54(11):18-26, 2017
6. Matsuura Y, Yamashita A, Zhao Y, Iwakiri T, Yamasaki K, Sugita C, Koshimoto C, Kitamura K, Kawai K, Tamaki N, Zhao S, Kuge Y, Asada Y. Altered glucose metabolism and hypoxic response in alloxan-induced diabetic atherosclerosis in rabbits. *PLoS One*. 12(4):e0175976, 2017
7. Oshima N, Akizawa H, Kawashima H, Zhao S, Zhao Y, Nishijima K, Kitamura Y, Arano Y, Kuge Y, Ohkura K. Redesign of negatively charged  $^{111}\text{In}$ -DTPA-octreotide derivative to reduce renal radioactivity. *Nucl Med and Biol*. *Nucl Med Biol*. 48(5):16-25, 2017

#### 学会発表

1. Songji Zhao. Preclinical and Translational Research on a Novel Thymidine Phosphorylase (TP) Imaging Probe,  $^{123}\text{I}$ -IIMU Using SPECT. BIT's 11th World Congress of Regenerative Medicine & Stem Cell 2017 in Singapore, November 14-16, 2017
2. 趙 松吉. 「震災後の福島復興—福島県立医科大学 ふくしま国際医療科学センター先端臨床研究センターの現状と展望. 2017 年度笹川医学奨学金制度研究セミナー. 2017 年 10 月 12 - 14 日, 福島.
3. 趙 松吉, 久下 裕司, 玉木 長良. 小動物インビロイメージングの有用性. 第 26 回日本バイオイメーシング学会. シンポジウム. 2017 年 9 月 16 日～17 日. 東京
4. Songji Zhao. Current Status and Future Prospects of Molecular Imaging and Targeted Radionuclide Therapy in Fukushima Medical University. 「首届吉林大学基础医学院与日本福島県立医科大学学术研讨会. 2017 年 8 月 10 日. 中国・長春
5. 趙 松吉. 日本甲状腺癌治療の現状及び展望. 2017 年国家級継続医学教育項目—分化型甲状腺癌治療新進展. 中国延辺大学医学部附属医院核医学国際シンポジウム. 2017 年 8 月 5 日. 中国・延吉.
6. Zhao S, Yu W, Ukon N, Nishijima K, Shimizu Y, Higashikawa K, Yamashita H, Tamaki N, Kuge Y. Effect of eribulin on remodeling of tumor vasculature confirmed by FMISO PET imaging-Small-animal PET study in human breast cancer cell xenograft-. A paper (Oral) presentation at the 64<sup>th</sup> Society of Nuclear Medicine Annual Meeting in Denver, June 10-14, 2017
7. Shimizu Y, Zhao S, Kishi R, Yasui H, Nishijima K, Matsumoto H, Tamaki N, Ogawa M, Kuge Y. Accumulation mechanism of novel PET imaging probe “[ $^{18}\text{F}$ ]DiFA” in hypoxic cells revealed by imaging mass spectrometry. A paper (Oral) presentation at the 64<sup>th</sup> Society of Nuclear Medicine Annual Meeting in Denver, June 10-14, 2017
8. Yasui H, Zhao S, Higashikawa K, Ukon N, Shimizu Y, Matsumoto H, Tamaki N, Kuge Y. Preclinical evaluation of [ $^{18}\text{F}$ ]DiFA, a novel PET probe for tumor hypoxia, in comparison with [ $^{18}\text{F}$ ]MISO. A paper (Poster) presentation at the 64<sup>th</sup> Society of Nuclear Medicine Annual Meeting in Denver, June 10-14, 2017
9. Aoki M, Tominaga H, Kato J, Oda T, Zhao S, Hiasa T, Oriuchi N, Takenoshita S. The Production of  $^{211}\text{At}$  at Fukushima Medical University. A paper (Poster) presentation at the 10<sup>th</sup> International Symposium on Targeted Alpha Therapy (TAT-10) in Kanazawa, May 30-June 1, 2017.
10. Miho Aoki, Hideyuki Tominaga, Jun Kato, Takashi Oda, Songji Zhao, Toshikazu Hiasa, Noboru Oriuchi, Seiichi Takenoshita. The Production of  $^{211}\text{At}$  at Fukushima Medical University. 10th International Symposium on

Targeted Alpha Therapy. Kanazawa, Japan. May 30- June 1, 2017

11. 安井 博宣, 趙 松吉,  $^{18}\text{F}$ -MISO との比較による新規低酸素標的 PET プローブ  $^{18}\text{F}$ -DiFA の有用性評価. 日本分子イメージング学会第 12 回総会・学術集会. 2017 年 5 月 25 日～26 日. 横浜.
12. 織内 昇, 菅原茂耕, 萱野大樹, 伊藤 浩, 栗生木美穂, 富永英之, 趙 松吉, 永津弘太郎, 張 明栄, 東 達也. 福島県立医科大学における RI 内用療法と新規開発. 第 54 回 腫瘍・免疫核医学研究会 2017 年 4 月 22 日
13. Oriuchi N, Tominaga H, Zhao S, Aoki M, Takenoshita S, Oda T, Zhang M, Nagatsu K, Higashi T, Ishioka N. Production of At-211 by In-house Cyclotron and Characterization at Fukushima Medical University. The 76<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japan Radiological Society in Yokohama, April 13-16, 2017.

その他（特許申請，新聞等広報，受賞，特記事項等）

## 低線量 $\alpha$ 線照射と細胞性免疫が細胞の生存能に及ぼす影響に関する研究

### 研究組織

拠点機関研究者：西 弘大（長崎大学原爆後障害医療研究所：助教）

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）

### 研究目的

$\alpha$  線は組織内の飛程が短いため、被ばくによる放射線障害の観点からは、内部被ばくが問題となる。また  $\alpha$  線は高 LET のため、効果的に DNA 二重鎖切断を誘導して細胞に修復困難なダメージを与えることから、がん治療に有効である。サイクロトロンで製造可能な At-211（ $\alpha$  線飛程：55-70 $\mu$ m）は、ハロゲン元素のため安定な共有結合で分子に導入できることから、抗体などに標識した治療薬の開発が注目されている。

$\alpha$  線は現状の RI 治療に使用される I-131 などの  $\beta$  線と比較して飛程が短く、腫瘍周囲の微小環境に対する影響が少ないため、宿主の腫瘍免疫を温存できる可能性がある。本研究では、Antibody-dependent cell cytotoxicity（ADCC）を誘導する抗体による免疫治療に対する  $\alpha$  線併用の効果を検討する。

### 研究実施内容

がん治療を目的とする  $\alpha$  線による抗腫瘍効果や安全性の基礎となる  $\alpha$  線核種標識化合物の体内分布の評価に関する基本的なデータとして、 $\alpha$  線核種アスタチン 211（ $^{211}\text{At}$ ）の正常マウスならびに担癌モデルマウスにおける体内動態を解析した。イソフルラン麻酔下で正常マウス（ $n=25$ ）に  $^{211}\text{At}$  を 0.150 ～ 0.170 MBq 投与し、投与 5 分、1 時間、3 時間、6 時間、24 時間（各群  $n=5$ ）後にイソフルラン麻酔下でマウスを屠殺し、主要な臓器を摘出して重量と放射能を測定した。また担癌モデルマウス（ $n=3$ ）に対しては、腫瘍細胞リンパ球や単球のほか腫瘍細胞にも発現が見られるケモカインレセプターである CXCR4 に対するモノクローナル抗体に I-125 を標識した  $^{125}\text{I}$ -CXCR4 を 0.32 ～ 0.33 MBq 投与し、投与 6 時間後に腫瘍と主要な臓器を摘出して重量と放射能を測定した。臓器の  $^{125}\text{I}$ -CXCR4 分布は、投与量に対する臓器 1 g 当たりの集積（%）である %ID/g で表した。

その結果、血液、血漿、心臓、脾臓、膵臓、小腸、大腸、腎臓、副腎、肝臓、骨および褐色脂肪への  $^{211}\text{At}$  集積は時間とともに減少した。胃、精巣への  $^{211}\text{At}$  集積は 1 時間と 3 時間で最も高く、その後時間とともに減少した。顎下腺では投与 6 時間後に最も高い集積を示した。甲状腺への  $^{211}\text{At}$  集積（% ID）は時間とともに増加した。筋肉、白色脂肪、脳では低い  $^{211}\text{At}$  集積を示した。

$^{125}\text{I}$ -CXCR4 投与 6 時間後、腫瘍は筋肉より顕著な高集積を示した。しかし  $^{125}\text{I}$ -CXCR4 投与 6 時間後、血液の集積は高く、クリアランスが遅いことが示された。

### 今後の展望

ADCC 活性を有する抗 CD20 抗体に  $^{211}\text{At}$  を標識し、in vitro で CD20 を発現するヒト悪性リンパ腫細胞に  $^{211}\text{At}$  標識抗 CD20 抗体を加え、細胞の生存分画から細胞障害を明らかにし、同細胞をヌードマウスに移植した動物モデルを作製して、抗体単独、 $^{211}\text{At}$  標識抗体とそれぞれに抗アシアロ GM1 抗体を投与して NK 細胞を枯渇させた場合の動物モデルにおける腫瘍増殖を比較して、抗体による免疫治療に  $\alpha$  線を併用することによる、抗腫瘍効果の増強を明らかにする予定である。

### 発表論文

1. Shimizu A, Kaira K, Okubo Y, Utsumi D, Yasuda M, Tominaga H, Oriuchi N, Kanai Y, Takahashi K, Ishikawa O. Prognostic impact of LAT1 and CD98 expression in cutaneous angiosarcoma. *Neoplasma*. 2017;64(2):283-288. doi: 10.4149/neo\_2017\_216.

2. 腎シンチグラフィ. 泌尿器科検査パーフェクトガイド 臨床泌尿器科 第71巻第4号. PP64-66. 2017年4月5日発行 医学書院 東京
3. FDG-PET/CT. 泌尿器科検査パーフェクトガイド 臨床泌尿器科 第71巻第4号. PP74-76. 2017年4月5日発行 医学書院 東京

#### 学会発表

1. Noboru Oriuchi, Hideyuki Tominaga, Songji Zhao, Miho Aoki, Seiichi Takenoshita, Takashi Oda, Ming-Rong Zhang, Kotaro Nagatsu, Tatsuya Higashi, Noriko Ishioka. Production of At-211 by in-house cyclotron and characterization at Fukushima Medical University. 日本医学放射線学会総会 横浜 2017年4月13-16日
2. 織内 昇, 菅原茂耕, 萱野大樹, 伊藤 浩, 栗生木美穂, 富永英之, 趙 松吉, 永津弘太郎, 張 明栄, 東 達也. 福島県立医科大学における RI 内用療法と新規開発. 第54回 腫瘍・免疫核医学研究会 2017年4月22日
3. Miho Aoki, Hideyuki Tominaga Jun Kato, Takashi Oda, Songji Zhao, Toshikazu Hiasa, Noboru Oriuchi, Seiichi Takenoshita. The Production of  $^{211}\text{At}$  at Fukushima Medical University. 10th International Symposium on Targeted Alpha Therapy. Kanazawa, Japan. May 30- June 1, 2017
4. Noboru Oriuchi. New Treatment Facility and Targeted Alpha-particle Therapy in FMU. FMU-ICRP Workshop on Radiological Protection in Medicine. Fukushima, Japan. October 3, 2017
5. Shigeyasu Sugawara, Daiki Kayano, Shiro Ishii, Kei ishibashi, Yoshiyuki Kojima, Hiroshi Ito, Noboru Oriuchi. Monitoring of Ra-223 therapy by FDG-PET/MRI and Bone SPECT in CRPC patients with bone metastases. 第57回 日本核医学会学術総会 放射線治療セミナー 2017年10月7日
6. 織内 昇.  $\alpha$ 線放出核種によるがん治療の進歩と放射線治療の中の位置づけ. 第57回 日本核医学会学術総会 放射線治療セミナー 2017年10月7日
7. 織内 昇. 臨床応用に向けた標的アイソトープ治療 (RI 内用療法) の開発について. 第57回 日本核医学会学術総会 特別シンポジウム 2017年10月6日
8. Shigeyasu Sugawara, Daiki Kayano, Shiro Ishii, Hirotake Watanabe, Motoharu Hakozaiki, Hiroki Suenaga, Daichi Kuroiwa, Hirofumi Sekino, Osamu Hasegawa, Masayuki Miyajima, Naoto Hashimoto, Hiroshi Ito, Noboru Oriuchi. Setup of radionuclide therapy ward and initial experience of I-131 therapy in Fukushima Medical University Hospital. 第50回日本甲状腺外科学会学術集会 2017年10月26-27日

その他 (特許申請, 新聞等広報, 受賞, 特記事項等)

## CT 検査による放射線被ばくの染色体への影響解析と生物学的線量評価

### 研究組織

拠点機関研究者：坂井 晃（福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授）

稲葉 俊哉（広島大学原爆放射線医科学研究所：教授）

協力者：野地 秀義（福島県立医科大学腫瘍内科学講座：准教授）

### 研究目的

CT 検査を受けた小児において白血病や脳腫瘍が増加したと報告があり（Lancet, 2012）、低線量被ばくの典型であり医療被ばくの中でも被ばく線量の高い CT 検査による人体への影響を解明する必要がある。本研究では、CT 検査による放射線被ばくの生物学的線量評価のため以下の研究項目を行い、低線量被ばくによる染色体への影響と、さらにその解析に影響する加齢や喫煙などの交絡因子の関わりを明らかにする。

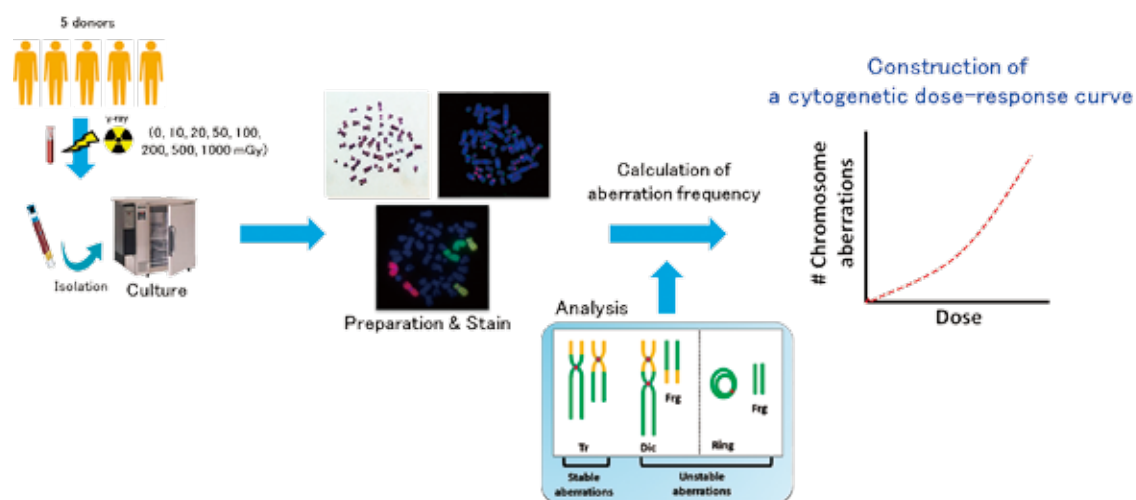
### 研究実施内容

- 正常健常者 5 人の末梢血リンパ球に 0 ～ 1,000 mGy（8 種の線量）の  $\gamma$  線照射を行い、DIC と転座型染色体解析用の標準曲線を作成した。

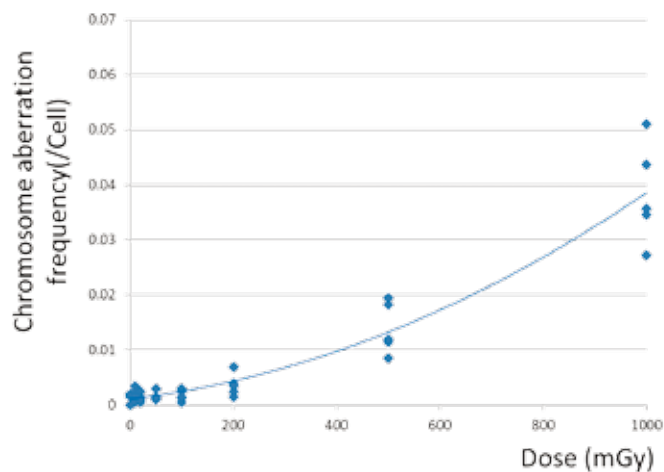
### 研究方法

5 人のボランティアから末梢血を集め、 $^{60}\text{Co}$  を線源とした  $\gamma$  線を 1 サンプルにつき計 8 線量（0、10、20、50、100、200、500、1000 mGy）照射した。照射後、末梢血リンパ球を分離し分裂刺激剤（PHA）を添加し 48 時間培養、培養終了 2 時間前には分裂停止剤（コロセミド）を加えた。

染色体標本の作製は IAEA の国際マニュアルに準じて行った。作成した標本は古典的手法であるギムザ染色による Dic 解析、Centromere に特定のプローブを用いた Centromere-FISH による Dic 解析、染色体 1 番、2 番、4 番の全長をペインティング法によって識別する転座解析の 3 手法を行い、それぞれの手技で観察される染色体異常頻度について解析をおこなった（図 1）。解析ソフト「Dose Estimate」を用いて線量応答曲線を作成した（図 2、3、4）。

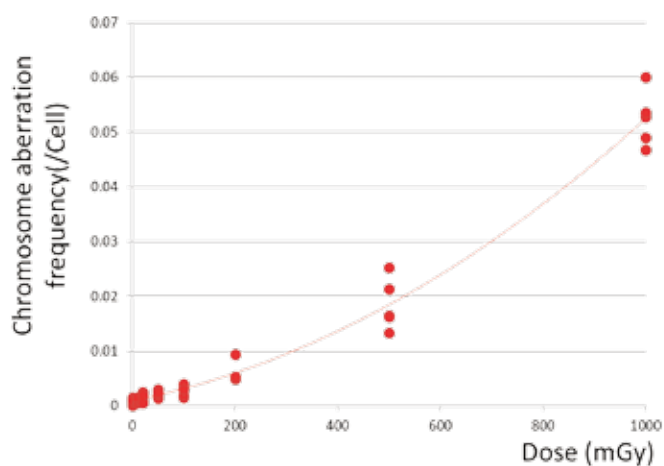


（図 1）DIC と転座型染色体解析用の標準曲線の作成方法



(図2) ギムザ染色による Dic 解析の線量応答曲線

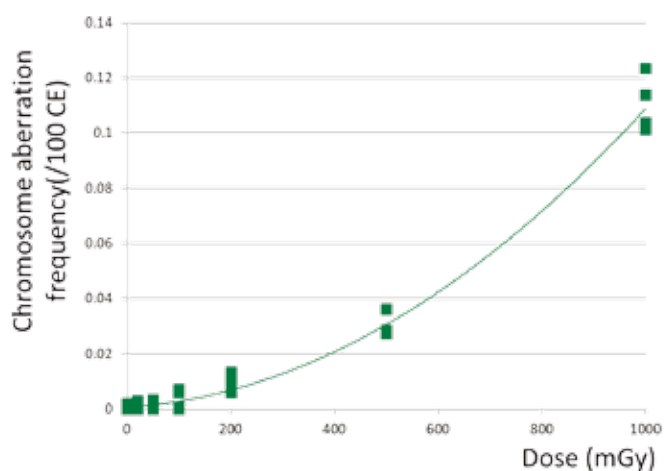
$$Y=0.0013(\pm 0.0005)+0.0067(\pm 0.0071) \times D+0.0313(\pm 0.0091) \times D^2$$



(図3) Centromere-FISH による Dic 解析の線量応答曲線

$$Y=0.0010(\pm 0.0004)+0.0186(\pm 0.0081) \times D+0.0329(\pm 0.0104) \times D^2$$

染色体転座に関しては、加齢による異常頻度の増加が知られているため、Sigurdson らのデータ (*Mutat Res.* 2008) を用いて年齢補正を行い、線量応答曲線を作成した。



(図4) ペインティング法による染色体1番、2番、4番の転座解析の線量応答曲線

$$Y=0.0015(\pm 0.0009)+0.0049(\pm 0.0155) \times D+0.1033(\pm 0.0223) \times D^2$$



- (2) 1回のCT検査前後での二動原体染色体（DIC）と転座型染色体の形成数を解析し、さらにCT検査3回（年1回）の累積による実効被ばく線量を計測し染色体異常の形成数との関係を解析している（表1、2、3；図1、2）。

（表1）患者情報

| Patient No | Disease               | Part of body examined in CT scan | Period of 1st- 2nd | Period of 2nd- 3rd | WAZA-ARI (mSv) <sup>#1</sup> | Treatment <sup>#2</sup> | Smoking status <sup>#3</sup> | Past CT examination <sup>#4</sup> | Other X-ray examinations <sup>#5</sup> |
|------------|-----------------------|----------------------------------|--------------------|--------------------|------------------------------|-------------------------|------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------|
| 1          | Lymphoma              | Cervix, Chest, Abdomen, Pelvis   | 12.9 months        | 12.5 months        | 62.5                         | (+)                     | (-)                          | (+)                               | Chest, UGI, PET                        |
| 2          | Lymphoma              | Chest, Abdomen, Pelvis           | 10.9 months        | 11.5 months        | 55.5                         | (-)                     | (+)                          | (+)                               | Chest, UGI, PET                        |
| 3          | Chest abnormal shadow | Cervix, Chest, Abdomen, Pelvis   | 12 months          | 12 months          | 72.5                         | (-)                     | (+)                          | (+)                               | Chest, UGI                             |

#1 The average effective radiation dose of each CT scan as calculated using WAZA-ARI.

#2 Chemotherapy or radiotherapy had been performed at least three years before this study.

#3 Patient of #2 had given up smoking one years before this study. Patient of #3 was also smoking at the beginning of the study.

#4 All patients took examinations of CT scanning more than 5 times during the past 5 years.

#5 UGI: X-ray examination of the upper gastrointestinal tract, PET: positron emission tomography.

（表2）DIC 解析

| Patient No. | Timing        | Score cells | No. of Dics | Increment of Dics | Frequency of observed Dics <sup>#1</sup> |
|-------------|---------------|-------------|-------------|-------------------|------------------------------------------|
| 1           | 1st CT Before | 2009        | 7           | 2                 | 0.35                                     |
|             | 1st CT After  | 2008        | 9           |                   | 0.45                                     |
|             | 2nd CT Before | 2005        | 6           | -1                | 0.30                                     |
|             | 2nd CT After  | 2010        | 5           |                   | 0.25                                     |
|             | 3rd CT Before | 2009        | 7           | 2                 | 0.35                                     |
|             | 3rd CT After  | 2003        | 9           |                   | 0.45                                     |
| 2           | 1st CT Before | 2015        | 11          | 4                 | 0.55                                     |
|             | 1st CT After  | 2007        | 15          |                   | 0.75                                     |
|             | 2nd CT Before | 2012        | 9           | 3                 | 0.45                                     |
|             | 2nd CT After  | 2009        | 12          |                   | 0.60                                     |
|             | 3rd CT Before | 2008        | 10          | 2                 | 0.50                                     |
|             | 3rd CT After  | 2005        | 12          |                   | 0.60                                     |
| 3           | 1st CT Before | 2011        | 9           | 4                 | 0.45                                     |
|             | 1st CT After  | 2005        | 13          |                   | 0.65                                     |
|             | 2nd CT Before | 2006        | 8           | 3                 | 0.40                                     |
|             | 2nd CT After  | 2008        | 11          |                   | 0.55                                     |
|             | 3rd CT Before | 2007        | 12          | 3                 | 0.60                                     |
|             | 3rd CT After  | 2012        | 15          |                   | 0.75                                     |

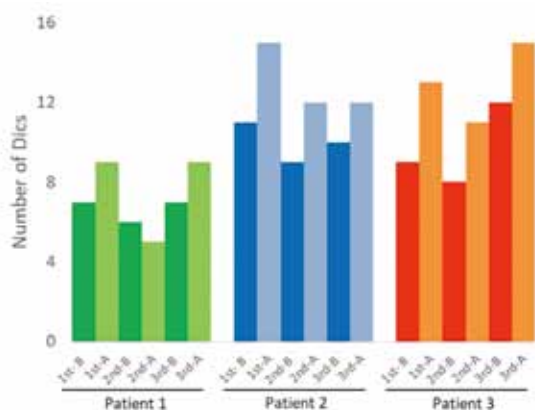
#1 per 100 cells

（表3）染色体転座解析

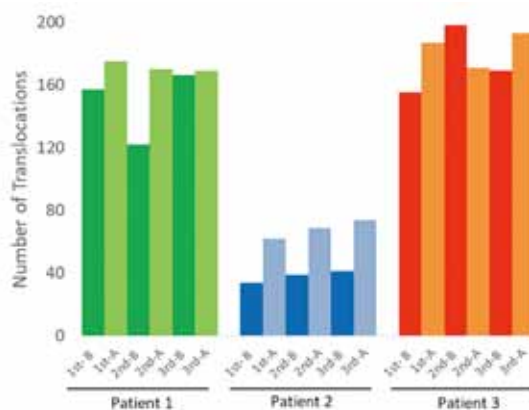
| Patient No. | Timing        | Number of cells scored |                               | Number of translocations | Number of dics | Increment of Translocations | Frequency of observed translocation <sup>#2</sup> |
|-------------|---------------|------------------------|-------------------------------|--------------------------|----------------|-----------------------------|---------------------------------------------------|
|             |               | Cell count of analysis | Cell equivalent <sup>#1</sup> |                          |                |                             |                                                   |
| 1           | 1st CT Before | 5120                   | 2007.0                        | 157                      | 26             | 18                          | 7.82                                              |
|             | 1st CT After  | 5175                   | 2028.6                        | 175                      | 43             |                             | 8.63                                              |
|             | 2nd CT Before | 5112                   | 2003.9                        | 122                      | 17             | 48                          | 6.09                                              |
|             | 2nd CT After  | 5110                   | 2003.1                        | 170                      | 30             |                             | 8.49                                              |
|             | 3rd CT Before | 5149                   | 2018.4                        | 166                      | 20             | 3                           | 8.22                                              |
|             | 3rd CT After  | 5124                   | 2008.6                        | 169                      | 19             |                             | 8.41                                              |
| 2           | 1st CT Before | 5174                   | 2028.2                        | 34                       | 1              | 28                          | 1.68                                              |
|             | 1st CT After  | 5222                   | 2047.0                        | 62                       | 5              |                             | 3.03                                              |
|             | 2nd CT Before | 5139                   | 2014.5                        | 39                       | 1              | 30                          | 1.94                                              |
|             | 2nd CT After  | 5131                   | 2011.4                        | 69                       | 11             |                             | 3.43                                              |
|             | 3rd CT Before | 5154                   | 2020.4                        | 41                       | 4              | 33                          | 2.03                                              |
|             | 3rd CT After  | 5198                   | 2037.6                        | 74                       | 8              |                             | 3.63                                              |
| 3           | 1st CT Before | 5182                   | 2031.3                        | 155                      | 30             | 32                          | 7.63                                              |
|             | 1st CT After  | 5166                   | 2025.1                        | 187                      | 10             |                             | 9.23                                              |
|             | 2nd CT Before | 5215                   | 2044.3                        | 198                      | 10             | -27                         | 9.69                                              |
|             | 2nd CT After  | 5130                   | 2011.0                        | 171                      | 14             |                             | 8.50                                              |
|             | 3rd CT Before | 5105                   | 2001.2                        | 169                      | 10             | 24                          | 8.45                                              |
|             | 3rd CT After  | 5174                   | 2028.2                        | 193                      | 16             |                             | 9.52                                              |

#1 =Cell count\*196/500 (Refer to the calculation formulae described in EPR-BIODOSIMETRY 2011. IAEA)

#2 per 100 cells equivalent



（図1）DIC 形成数の経年変化



（図2）転座形成数の経年変化

## 今後の展望

治療終了後年1回のCT検査を3回受けた患者のDICと転座型染色体の累積形成数について、解析患者数を最低10人  
行い論文化する。

## 発表論文

Abe Y, Yoshida MA, Fujioka K, Kurosu Y, Ujiie R, Yanagi A, Tsuyama N, Miura T, Inaba T, Kamiya K, Sakai A.  
Dose-response curves for analyzing of dicentric chromosomes and chromosome translocation following doses of 1,000  
mGy or less based on irradiated peripheral blood samples from 5 healthy individuals. J Radiation Research.59: 35-42,  
2018.

## 学会発表

Yu Abe, Hideyoshi Noji, Misaki Sugai, Yumiko Kurosu, Takashi Ohba, Aki Yanagi, Yukari Yanai, Naohiro Tsuyama,  
Tetsuo Ishikawa, Tomisato Miura, Kenji Kamiya, Mitsuaki A Yoshida, Akira Sakai. Investigation of the cumulative  
number of chromosome aberrations induced by three consecutive CT scans. American Association for Cancer  
Research Annual Meeting 2018. Chicago. USA. 2018.4.15.

## その他（特許申請，新聞等広報，受賞，特記事項等）

該当なし

## 組織幹細胞動態を基軸としたモデル動物における線量率効果の研究

### 研究組織

拠点機関研究者：鈴木 啓司（長崎大学原爆後障害医療研究所：准教授）  
本庶 仁子（広島大学原爆放射線医科学研究所：講師）  
笹谷 めぐみ（広島大学原爆放射線医科学研究所：准教授）  
大野 芳典（広島大学原爆放射線医科学研究所：助教）  
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）  
\*河合 秀彦（広島大学原爆放射線医科学研究所）  
\*年度途中で異動

### 研究目的

放射線被ばく影響の線量率効果の研究は、低線量被ばく影響を理解するにあたっては極めて重要であり、その基盤メカニズムの解明には、組織幹細胞への影響に根ざした組織反応の解明が不可欠である。そこで本申請研究では、ゼブラフィッシュやマウスなどの放射線高感受性実験動物に対する放射線被ばくの生物学的影響を、照射線量率による違いといった観点から組織細胞生物学的に解析し、放射線影響の線量率依存性の分子機構を明らかにする。

### 研究実施内容

#### 長崎大：鈴木

放射線被ばく影響の線量率効果の研究は、長期慢性被ばく影響を理解するうえで極めて重要であり、その基盤メカニズムの解明には、組織幹細胞への影響に根ざした組織反応の解明が不可欠である。本研究では、マウスの放射線発がんシステムを対象にして、放射線被ばくの生物学的影響を、組織細胞生物学的に解析する実験系の確立をめざしてきた。その結果、放射線の組織反応のみならず、晩発影響にも組織反応が深く関与している事が次第に明らかになってきた。さらに、非がん影響との接点も見据えながら、組織反応を基軸とした放射線影響研究の展開について議論した。

マウス発がん系では、放射線被ばく後約 200 日程度で胸腺リンパ腫などの造血系腫瘍が発生し、400 日を超える頃から肝臓がんや肺がんが発生する。しかしながら、これらのがん発症に至るメカニズムは、胸腺リンパ腫においてがん遺伝子の解析が進んでいることを除けば、全く明らかにされていない。そこで、放射線照射後からの組織反応を時空間的に追跡することにより、発がんに至る過程を明らかにしようとして計画し、様々な組織反応を解析する実験系を確立しつつある。増殖性の組織反応は、通常の Ki-67 を用いるが、極めて感度の高いクローンを見いだした。また、分裂期の細胞を可視化する抗体や、PCNA や MCM7 が検出できる。DNA 損傷では、53BP1 や  $\gamma$ H2AX、炎症や免疫細胞の検出には、CD3/B220、CD4/8、F4-80/CD11b など、また、再考骨格や細胞接着の検出から、脂肪滴の検出、毛細血管の描画など、幅広い検討を可能にしている。

このような手法により、例えば肝臓において、放射線照射により、特徴的な脂肪性の障害が発せすることを見いだした。これらは、ヒトにおける NAFLD と同等の症状を示し、脂肪滴の過剰な蓄積をとまう。NAFLD は、NASH を経て肝がんに至る過程とされていることから、放射線による肝がんも同様のプロセスを減ることが示唆されるなどの結果を得ている。

#### 広大：本庶

ゼブラフィッシュを用いたユニークな実験系において、主に初期発生における放射線被ばく影響に注目した解析結果を報告した。初期発生期は、比較的放射線に対する感受性が高いこと、また、組織形成を行う時期であることからその放射線影響を調べる事が重要である。

ゼブラフィッシュ胚での最も感受性の高い時期を明らかにするとともに、初期発生時の細胞応答について解析した。

広大：笹谷

低線量（率）放射線発がんリスク評価は重要な課題であるが、原爆被爆者を用いた疫学研究からは十分な知見が得られていないのが現状である。我々は、これまでのマウス個体を用いた研究から、ヒト大腸がんモデルマウス（*Apc<sup>Min/+</sup>* マウス）が低線量・低線量率放射線被ばく影響を有意に検出できることを見出した。更に我々は、このモデルを用いることにより放射線発がんの爪痕を高感度に検出することができるという利点を見だし、現在、その分子機構解明を目指している。

広大：大野

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対して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が造血システムに対する影響に関しては充分には解明されていない。そこで当研究グループでは低線量率放射線被ばくが造血システムにどのような影響を及ぼすのか、20 mGy/day から 100 mGy/day の低線量率放射線被ばくが造血組織に対してどのような影響を及ぼすのかを解析した。そして、末梢血や造血前駆細胞に対して低線量率放射線照射は有意な影響を及ぼさないが、KSL 細胞や造血幹細胞が特異的に減少することを明らかにした。さらに移植実験の解析結果から、低線量率放射線被ばくが造血幹細胞の多分化能に対して影響を与え、特にリンパ球系細胞への分化が低下することを明らかにした。これらの結果から、低線量率放射線被ばくは造血幹細胞の数を減少させるだけでなく、その機能不全を誘発し、特に免疫担当細胞の産生に対しては顕著な影響を及ぼすことが解った。そこで、造血組織の低線量率放射線影響に対する分子応答を詳細に明らかにするため、単一細胞での放射線に対する分子応答を解析する実験系を確立し解析を進めている。

福島医大：大津留

低線量被ばく影響とリスク研究というタイトルで、本プロジェクトに寄せる期待が述べられた。小児甲状腺がんの発症機構については解明されていない部分も多く、本プロジェクトメンバーの研究成果や文献レベルでの検討結果が望まれる。

広大：河合

ヒト培養細胞とガンマ線持続照射環境を用いて、持続照射が細胞老化を高頻度に誘導することを報告した。また、ガンマ線を持続照射したマウスにおける、高頻度の細胞老化の誘導の可能性も示した。加齢に伴って現れる症状や疾患と生体内での老化細胞蓄積との密接な関係を示す研究結果が多く報告されていることから、放射線被ばくによって誘導される細胞老化の実態を組織レベルで明らかにすることは、放射線の健康影響を考える上で重要であると考えられる。

今後の展望

1. 放射線被ばくマウスにおいて放射線被ばくの生物学的影響を、組織細胞生物学的に解析する実験系を確立しているが、この技術は、これまで解析されてきた、マウスなどの発がん動物モデルにおける放射線発がんのメカニズムに切り込む極めて有効なツールとなる。例えば、本 TR プロジェクトでは、放射線による小腸腫瘍の発生や、造血組織における組織応答の解析が進められている。これらの研究との協働により、プロジェクト内の個別の研究が一層推進されることが期待される。
2. 個体を用いた損傷応答のイメージング系の確立は、放射線影響の時空間的ダイナミズムの解明につながり、また、個別の組織の感受性の違いなどを理解する手掛かりが得られる。今後、DNA 損傷の検出系等を複次的に導入することにより、個体内での放射線応答を描画することをすすめる。
3. ヒト大腸がんモデルマウス（*Apc<sup>Min/+</sup>* マウス）における、小腸腫瘍の誘発と、高感度の放射線発がんの爪痕検出は、低線量・低線量率放射線被ばくによる生体影響を解析する上で、極めて有益な研究機会を提供するものである。今後、TR プロジェクト内で、放射線発がんにおける微小環境の関与を共同で明らかにしていくことで、今後の融合研究につなげていく。
4. 造血組織における低線量率放射線影響を解析するため、単一細胞遺伝子発現解析などの単一細胞での放射線に対する分子応答を解析する実験系の確立が進んでいる。今後、これら実験系の共有により、放射線影響の線量率依存性の分



子機構の解明に貢献する融合研究へつなげていきたい。

5. 小児甲状腺がんの発症機構については解明されていない部分も多く、本プロジェクトメンバーの研究成果や文献レベルでの検討結果を蓄積する。

## 発表論文

1. Suzuki K. Analyzing ATM function by electroporation of endonucleases and immunofluorescence microscopy. *Methods Mol Biol.*, 1599, 85-96, 2017.
2. Suzuki K. Tissue reaction of the liver in response to radiation exposure. *Radiat Biol Res Commun.*, 52(4) 364-384, 2017.
3. Otsuka K, Suzuki K., Fujimichi Y, Tomita M, Iwasaki T. Cellular responses and gene expression profiles of colonic Lgr5+ stem cells after low-dose/low-dose rate radiation exposure. *J Radiat Res.*, Dec 21, 2017. doi: 10.1093/jrr/rrx078. [Epub ahead of print].
4. Yamauchi M, Shibata A, Suzuki K., Suzuki M, Niimi A, Kondo H, Miura M, Hirakawa M, Tsujita K, Yamashita S, Matsuda N. Regulation of pairing between DNA-containing chromatin regions by Ku80, DNK-PKcs, ATM and 53BP1. *Sci Rep.*, 7, 41812, 2017.
5. Matsuse M, Yabuta T, Saenko V, Hirokawa M, Nishihara E, Suzuki K., Yamashita S, Miyauchi A, Mitsutake N, TERT promoter mutations and Ki-67 labeling index as a prognostic marker of papillary thyroid carcinomas: combination of two independent factors. *Sci Rep.*, 7, 2017.
6. Iyama K, Matsuse M, Mitsutake N, Rogounovitch T, Saenko V, Suzuki K., Ashizawa M, Ookouchi C, Suzuki S, Mizunuma H, Fukushima T, Suzuki S, Yamashita S. *Thyroid*, 27(6), 811-818, 2017.
7. Satoh A., Honjo Y. Do the Golgi Glycosylation Enzymes Cycle between the Endoplasmic Reticulum and the Golgi Apparatus? *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*. Vol. 29 No. 167, pp. E1-E2, 2017
8. 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 I. J., Shigehiro T., Kawaki H., Mizuno-Kamiya M., Kondoh N., Seno M. (2017). Tumor growth limited to subcutaneous site vs tumor growth in pulmonary site exhibit differential effects on systemic immunities. *Oncology reports* 38(1):449-455, 2017
9. Shimura T, Sasatani M., Kawai H, Kamiya K, Kobayashi J, Komatsu K, Kunugita N. ATM-mediated mitochondrial damage response triggered by nuclear DNA damage in normal human lung fibroblasts., *Cell Cycle*, 16(24), 2345-2354, 2017.
10. Watanabe H, Sasatani M., Doi T, Masaki T, Satoh K, Yoshizumi M. Protective Effects of Japanese Soybean Paste (Miso) on Stroke in Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats (SHRSP). *Am J Hypertens.*, 31(1), 43-47, 2017.
11. Morita A, Takahashi I, Sasatani M., Aoki S, Wang B, Ariyasu S, Tanaka K, Yamaguchi T, Sawa A, Nishi Y, Teraoka T, Ujita S, Kawate Y, Yanagawa C, Tanimoto K, Enomoto A, Neno M, Kamiya K, Nagata Y, Hosoi Y, Inaba T. A Chemical Modulator of p53 Transactivation that Acts as a Radioprotective Agonist., *Mol Cancer Ther.*, 17(2), 432-442, 2018.
12. Sasatani M., Xi Y, Kajimura J, Kawamura T, Piao J, Masuda Y, Honda H, Kubo K, Mikamoto T, Watanabe H, Xu Y, Kawai H, Shimura T, Noda A, Hamasaki K, Kusunoki Y, Zaharieva EK, Kamiya K. Overexpression of Rev1 promotes the development of carcinogen-induced intestinal adenomas via accumulation of point mutation and suppression of apoptosis proportionally to the Rev1 expression level., *Carcinogenesis*, 38(5), 570-578, 2017.
13. 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., *Sci Rep*, 7(1):1659, 2017.
14. Ohno Y., Suzuki-Takedachi K, Shirasu N, Yasunaga S, Takihara Y. Tissue reaction in the bone marrow. *Radiat*

Biol Res Commun., 52(4) 336-349, 2017.

#### 学会発表

1. Suzuki K. Biological mechanism of low-dose radiation effects. International Symposium of Radiation Emergency Management, Taipei, April 15, 2017
2. Honjo Y., Ichinohe T. ゼブラフィッシュ初期胚の放射線に対する影響の解析 Japanese Society of Radiation Biology, Chiba, Japan, Oct. 25-27, 2017
3. Honjo Y., Ichinohe T. Radiation-induced cellular responses during zebrafish early embryogenesis differ according to each developmental stage. Consortium of Biological Sciences 2017, Kobe, Japan, Dec. 6-9, 2017.
4. 笹谷めぐみ, 飯塚大輔, 河合秀彦, Zaharieva Elena, 神谷研二: 放射線発がん高感受性マウスを用いた低線量・低線量率発がんリスク評価. 第2回放射線災害・医科学研究拠点カンファレンス, 広島, 2017.6.3
5. 笹谷めぐみ, 飯塚大輔, 河合秀彦, Zaharieva Elena, 神谷研二: 遺伝的背景が放射線発がん高感受性モデルマウスの腫瘍形成に与える影響について. 第58回原子爆弾後障害研究会, 広島, 2017.6.4
6. 笹谷めぐみ: 発がん高感受性マウスを用いた化学発がん, 放射線発がんの機構解明. 平成29年度日本環境変異原学会 公開シンポジウム, 東京, 2017. 6. 10
7. 笹谷めぐみ, 飯塚大輔, 河合秀彦, Zaharieva Elena, 神谷研二: マウス個体を用いた低線量率放射線被ばくの生物影響について. 第42回中国地区放射線影響研究会, 広島, 2017.7.27
8. Megumi Sasatani, Daisuke Iizuka, Kenji Kamiya: Genetic mutation analysis in ionizing radiation (IR)-induced adenoma in  $Apc^{Min/+}$  mice, 第76回日本癌学会学術総会, 横浜, 2017.9.28 ~ 30
9. 笹谷めぐみ, 飯塚大輔, 河合秀彦, Zaharieva Elena, 神谷研二:  $Apc^{Min/+}$  マウスを用いた低線量, 低線量率放射線発がんリスク評価. 第60回日本放射線影響学会, 千葉, 2017.10.26
10. 笹谷めぐみ, 飯塚大輔, 河合秀彦, Zaharieva Elena, 神谷研二:  $Apc^{Min/+}$  マウスを用いた放射線誘発腫瘍における遺伝子変異の検出. 日本環境変異原学会第46回大会, 東京, 2017.11.6
11. 笹谷めぐみ, 飯塚大輔, 河合秀彦, Elena Zaharieva, 神谷研二,  $Apc^{Min/+}$  マウスを用いた低線量, 低線量率放射線発がんリスク評価の試みとその腫瘍解析, 2017年度生命科学系学会合同年次大会, 神戸, 2017.12.7
12. 笹谷めぐみ, Elena Zaharieva, 神谷研二, 放射線発がん高感受性マウスを用いた放射線発がんの分子機構解明, 県民公開大学, 福島, 2018.1.20
13. Megumi Sasatani, Daisuke Iizuka, Hidehiko Kawai, Elena Zaharieva, Kenji Kamiya, *Estimation of radiation-induced cancer risk at low doses and low dose rates using  $Apc^{Min/+}$  mice*, The 2<sup>nd</sup> International Symposium of the Network-type Joint Usage/ Research Center for Radiation Disaster Medical Science, Nagasaki, 2018.2.4
14. Ohno Y., Suzuki-Takedachi K, Santo M, Guo Y, Kanno M, Shirasu N, Yasunaga S, Santo M, Ohtsubo M, Takihara Y. Molecular responses for low dose-rate irradiation in the hematopoietic stem cells, giving rise to the higher radiosensitivity. 第79回日本血液学会総会 (2017年10月20-22日, 東京)
15. Ohno Y., Suzuki-Takedachi K, Santo M, Guo Y, Kanno M, Shirasu N, Yasunaga S, Santo M, Ohtsubo M, Takihara Y. 低線量率放射線照射環境下における造血システムへの影響とその分子応答 日本放射線影響学会第60回大会 (2017年10月25-28日, 千葉)
16. Ohno Y., Suzuki-Takedachi K, Santo M, Guo Y, Kanno M, Shirasu N, Yasunaga S, Santo M, Ohtsubo M, Takihara Y. Effect of low dose-rate irradiation on hematopoiesis. 第39回日本分子生物学会総会 (2017年12月6-9日, 神戸)

その他 (特許申請, 新聞等広報, 受賞, 特記事項等)



## 低線量率・低線量放射線被ばくによるゲノム変異の分子機序解明

### 研究組織

拠点機関研究者：鈴木 啓司（長崎大学原爆後障害医療研究所：准教授）

孫 継英（広島大学原爆放射線医科学研究所：講師）

緑川 早苗（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）

### 研究目的

放射線被ばくに起因する DNA 二重鎖切断は、誤修復することにより染色体転座・欠失・逆位等の染色体異常を生成し、これが、例えば白血病や甲状腺がん等では、放射線発がんの Driver 変異として関与していると考えられている。これらの染色体異常の誘導には、最低でも 2 個以上の DNA 二本鎖切断の形成損傷が必要とされるため、低線量放射線被ばくではその頻度は極めて低いと考えられているが、その詳細は不明である。一方で、低 LET 放射線飛跡末端で想定されている複雑な DNA 損傷や、1 トラックで生成した複数の DNA 損傷が染色体転座に係わる可能性も示唆されている。そこで、総線量が同じ放射線被ばくを、異なる線量率で受けた場合の染色体異常形成の分子機構について、特に、Driver 変異や染色体転座切断点集中領域でのクロマチン構造変化に着目して解明に取り組む。

### 研究実施内容

#### 長崎大：鈴木

放射線発がんに係わる Driver 変異として、ゲノム再編型の遺伝子融合が知られている。甲状腺がんにおける RET/PTC 変異はその代表であるが、高線量の放射線被ばくにより RET/PTC 変異が誘発されることが既に報告されている一方で、低線量あるいは低線量率放射線の影響については評価されていない。そこで本研究では、人為的に異なる線量の放射線を照射し、その結果起こるゲノム再編型変異について、線量依存性やゲノム融合ジャンクションのシーケンス解析などを実施している。このため、正常ヒト甲状腺濾胞由来の細胞を、in vitro で長期間増殖維持できる新しい培養法を確立した。これまでも、甲状腺濾胞細胞の樹立が報告され、Nthyori 等の培養細胞系が確立されているが、これらは、SV40 ウイルスによって無限増殖化された細胞であるために、p53 機能ならびに細胞周期停止に係わる RB 機能が消失しており、正常細胞として扱うことができない。そこで、正常細胞での検討を可能にするために、正常ヒト甲状腺濾胞から単離した細胞を、様々なタイプの培養液およびサプリメントを組み合わせることによって長期維持・培養できる条件を検討した。本細胞は、p53 機能や RB 機能は正常であり、放射線照射後の細胞周期停止も正常に誘導される。今後、甲状腺がんの Driver 変異である、RET/PTC 遺伝子融合変異を探索していく計画である。

#### 広大：孫

放射線被ばくや化学物質による DNA 二重鎖切断とその修復エラーは染色体転座・欠失・逆位等の染色体異常を生成する。染色体異常による遺伝情報の改変は、がん、白血病や先天異常の原因となりえる。ゲノム損傷応答の制御にかかわるリン酸化酵素のひとつである ATM の機能欠損は染色体不安定性をもたらすことが知られているが、その詳細については未だ不明である。我々は、抗がん剤エトポシドによる治療関連性白血病に認められている 11q23 転座をモデルとして、ATM など DNA 修復関連因子による誤修復と染色体転座切断点集中領域でのクロマチン構造変化に着目して解明に取り組んでいる。

#### 福島医大：緑川

甲状腺癌ほとんどは予後良好であるが、比較的高齢の成人の一部には進行性の転帰を辿るものもある。甲状腺癌スクリーニングを行うと、その臨床的特性から過剰診断例が多数発見されるが、その中に一部含まれる進行性の癌を臨床的に見分けることはできない。放射線被ばくによる甲状腺癌発生のメカニズムにおける Driver 遺伝子変異の解明は、進行癌と潜在癌を区別したり、Senescence となる癌を特定することに寄与する可能性があり、放射線災害下で甲状腺癌スクリーニ

ングを行うことの弊害を最小限にするために重要な知見となること予想される。本研究では、将来的に CTB などを利用して臨床経過と癌組織における Driver 遺伝子変異の特徴との関連を検討するため、放射線被ばくによる発がんスクリーニングによって発見されたがんの鑑別が可能かどうか、マーカー候補遺伝子に関する基盤研究を進めている。

#### 今後の展望

1. 正常ヒト甲状腺濾胞細胞を長期間増殖維持できる新しい培養法が確立されたことを受け、広島大原医研の低線量率・低線量放射線照射施設において、慢性的に放射線照射した甲状腺濾胞細胞において、甲状腺がんの Driver 変異である、RET/PTC 遺伝子融合変異を探索する共同研究が計画された。原医研では、既に、低線量率放射線照射の生物影響を、最先端の解析手法により幅広く解析しており、その結果との融合により、放射線被ばくによる甲状腺発がんの分子機序に係わる放射線災害・医科学研究の新境地の開拓が期待される。
2. クロマチンレベルでの解析技術は、分子レベルでの染色体異常形成のメカニズムを詳細に記述することができ、放射線被ばくに関連する小児甲状腺がんで見られる転座型遺伝子融合の分子機序の解明に大いに貢献すると期待される。
3. ここ数年、甲状腺癌の Driver 変異の解析が飛躍的に進み、また、hTERT プロモーター変異のように Driver 変異と関連してがんの悪性化に関わる変異が記載されるようになってきた。今後、甲状腺癌スクリーニングで見いだされる診断例の Driver 遺伝子変異を、FNA サンプルレベルで明らかにすることにより、進行癌と潜在癌を区別することが可能になれば、放射線災害下で行う甲状腺癌スクリーニングの弊害も最小限に留める事が実現できる。本 TR プロジェクトのメンバーが保有する技術と知識が共有されることにより、この問題を解決する糸口が見つかることが期待される。

#### 発表論文

1. Suzuki K. Analyzing ATM function by electroporation of endonucleases and immunofluorescence microscopy. *Methods Mol Biol.*, 1599, 85-96, 2017.
2. Suzuki K. Tissue reaction of the liver in response to radiation exposure. *Radiat Biol Res Commun.*, 52(4) 364-384, 2017.
3. Otsuka K, Suzuki K, Fujimichi Y, Tomita M, Iwasaki T. Cellular responses and gene expression profiles of colonic Lgr5+ stem cells after low-dose/low-dose rate radiation exposure. *J Radiat Res.*, Dec 21, 2017. doi: 10.1093/jrr/rrx078. [Epub ahead of print].
4. Yamauchi M, Shibata A, Suzuki K, Suzuki M, Niimi A, Kondo H, Miura M, Hirakawa M, Tsujita K, Yamashita S, Matsuda N. Regulation of pairing between DNA-containing chromatin regions by Ku80, DNK-PKcs, ATM and 53BP1. *Sci Rep.*, 7, 41812, 2017.
5. Matsuse M, Yabuta T, Saenko V, Hirokawa M, Nishihara E, Suzuki K, Yamashita S, Miyauchi A, Mitsutake N, TERT promoter mutations and Ki-67 labeling index as a prognostic marker of papillary thyroid carcinomas: combination of two independent factors. *Sci Rep.*, 7, 2017.
6. Iyama K, Matsuse M, Mitsutake N, Rogounovitch T, Saenko V, Suzuki K, Ashizawa M, Ookouchi C, Suzuki S, Mizunuma H, Fukushima T, Suzuki S, Yamashita S. *Thyroid*, 27(6), 811-818, 2017.

#### 学会発表

1. Suzuki K. Biological mechanism of low-dose radiation effects. International Symposium of Radiation Emergency Management, Taipei, April 15, 2017.

その他（特許申請，新聞等広報，受賞，特記事項等）

## 福島県における小児甲状腺がん発症者の末梢血リンパ球を用いた転座型染色体解析による生物学的線量評価

### 研究組織

拠点機関研究者：坂井 晃（福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授）

松浦 伸也（広島大学原爆放射線医科学研究所：教授）

宮本 達雄（広島大学原爆放射線医科学研究所：講師）

協力者：鈴木 真一（福島県立医科大学甲状腺内分泌学講座：教授）

鈴木 聡（福島県立医科大学甲状腺内分泌学講座：講師）

細矢 光亮（福島県立医科大学小児科学講座：教授）

佐藤 真紀（福島県立医科大学小児科学講座：講師）

石川 徹夫（福島県立医科大学放射線物理化学講座：教授）

大平 哲也（福島県立医科大学疫学講座：教授）

### 研究目的

原発事故後平成 23 年 10 月から福島県で実施されている小児甲状腺検査において 150 人以上の甲状腺がんが発見されているが、これら甲状腺がんの発症が放射線被ばくの影響によるものか検討するため、過去の全身の被ばく線量（内部被ばく＋外部被ばく）が推計可能な転座型染色体の形成数を、甲状腺がんを発症した小児と甲状腺がんを発症していない小児で比較する。さらにその形成数と原発事故後 4 ヶ月間の行動記録に基づく外部被ばく線量や福島県における地域性と関係があるか以下の方法で解析する。

### 研究実施内容

(1) 小児甲状腺がん患者および甲状腺関連疾患患者の診療（福島県立医大 甲状腺内分泌講座／小児科学講座）

(2) 上記 (1) で本研究に同意を得られた小児の末梢血リンパ球を用いた転座型染色体解析と震災後 4 ヶ月間の行動記録（基本調査）に基づく外部被ばく線量の結果を収集（福島県立医大 放射線生命科学講座／放射線物理科学講座／疫学講座）

目標解析数は甲状腺がん 30 人、非甲状腺がん疾患 30 人。

Table 1. Patient background data

| Patient No. | Age | Sex    | Type of Thyroid cancer  | Past disease <sup>#1</sup>                | Past Treatment               | Smoking status    | Family history |
|-------------|-----|--------|-------------------------|-------------------------------------------|------------------------------|-------------------|----------------|
| 1           | 15  | Male   | Malignant               | Brain tumor (1)                           | Chemotherapy<br>Radiotherapy | (-)               |                |
| 2           | 15  | Female | Malignant               | (-)                                       | (-)                          | (-)               |                |
| 3           | 14  | Male   | Malignant               | Bronchitis (6)                            | (-)                          | (-)               | DM、HT、大腸癌、乳癌   |
| 4           | 13  | Female | Malignant               | (-)                                       | (-)                          | (-)               | DM、HT、前立腺癌     |
| 5           | 22  | Male   | Malignant               | (-)                                       | (-)                          | (-)               | DM             |
| 6           | 13  | Male   | Malignant               | (-)                                       | (-)                          | (-)               | 癌              |
| 7           | 16  | Male   | Malignant               | allergic rhinitis,<br>中耳炎 (8)             | (-)                          | (-)               |                |
| 8           | 18  | Male   | Malignant               | (-)                                       | (-)                          | (-)               |                |
| 9           | 18  | Female | Malignant               | pneumonia (1),<br>ovarian cystoma (17)    | (-)                          | (-)               | DM, HT         |
| 10          | 18  | Male   | Malignant               | (-)                                       | (-)                          | (+) <sup>#5</sup> |                |
| 11          | 21  | Male   | Malignant               | (-)                                       | (-)                          | (-)               |                |
| 12          | 17  | Female | Malignant               | (-)                                       | (-)                          | (-)               | PTSD、統合失調症、肝臓癌 |
| 13          | 29  | Female | Malignant               | (-)                                       | (-)                          | (-)               |                |
| 14          | 19  | Male   | Primary hyperthyroidism | Ureteral stone (19)                       | (-)                          | (-)               | 癌              |
| 15          | 17  | Male   | Malignant               | ASD <sup>#2</sup><br>(be under treatment) | Medication <sup>#3</sup>     | (-)               |                |
| 16          | 21  | Male   | Malignant               | (-)                                       | (-)                          | (+) <sup>#6</sup> | DM、HT、癌        |
| 17          | 15  | Female | Benign                  | (-)                                       | (-)                          | (-)               |                |
| 18          | 17  | Female | Benign                  | 舌根嚢胞 (14)<br>(be under treatment)         | Medication <sup>#4</sup>     | (-)               | HT、癌           |
| 19          | 20  | Male   | Malignant               | (-)                                       | (-)                          | (-)               |                |

# 1. ( ) is the age of onset.

# 2. Autism spectrum disorder

# 3. フルボキサミンマレイン酸塩錠 25mg、ツムラ抑肝散加陳皮半夏エキス顆粒（医療用）2.5、ルネスタ錠 1mg

# 4. Unknown.

# 5. Smoking history is unknown. Quit smoking from Sep, 2016.

# 6. Smoking is two years ago.

# 7. Diabetes Mellitus.

# 8. Hypertension

Blood sampling is performed the next day after operation.

Pattern 1: Age: 13 ~ 29 (Average: 17.8), when an accident occurs: 8 ~ 23.

Pattern 2: Age: 13 ~ 22 (Average: 17.2), when an accident occurs: 8 ~ 16.

#### 解析方法・判定基準の策定について

小児甲状腺がん患者の染色体解析の目的は福島第一原子力発電所事故に基づく放射線被ばくの影響の有無について調べることである。現在、末梢血リンパ球における染色体異常頻度を指標とした線量評価法が被ばく事故においては最も信頼できる生物学的線量評価法で、Gold Standard とも称されている (IAEA, 2011)。研究開始時に既に事故から5年が経過していることから遡及的線量評価が可能な染色体転座法の内、近年の分子生物学的手法を用いた新たな解析技術である染色体ペインティング法（国際標準化機構：ISOにて来年度？制定予定）を行うことにした。着色する染色体はDNA保有率等から1番、2番、4番染色体を対象とし、MetaSystem社のXCP-Mix probe (Mix-#1R-#2G-#4RG; Altiusheim, Germany)を使用した。この手法ではゲノムの一部のみを着色して観察するため、ゲノム全体の異常頻度を計算式にて補正する必要がある。1番、2番、4番染色体の全ゲノムに占める割合は約23%であり、Lucasらの計算式を変形すると以下の通りになる (IAEA, 2011)。

$$F_G = F_{P(1+2+4)} / 2.05 [f_1(1-f_1)+f_2(1-f_2)+f_4(1-f_4) - (f_1f_2+f_1f_4+f_2f_4)]$$

$F_G$ : the full genome aberration frequency,

$F_P$ : the translocation frequency detected by FISH,

$f_p$ : the fraction of genome hybridized, taking into account the gender of the subjects  
(female:  $f_p = 0.2234$ , male:  $f_p = 0.2271$ ).

この式を整理すると次のようになる。

$$F_G = F_P \times 2.567 \text{ (Female)}$$

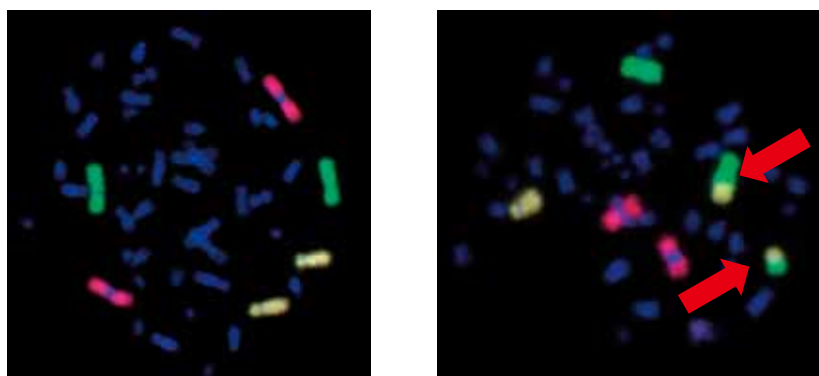
$$F_G = F_P \times 2.533 \text{ (Male)}$$

我々はより簡潔に染色体異常（転座）頻度を算出するために、分析細胞数をこの係数（2.567, 2.533）で割った分析細胞相当数（cell equivalent）と観察値（ $F_P$ ）から異常頻度（ $F_G$ ）を計算することとした。

しかしながら染色体異常、特に転座は放射線以外の要因によっても形成されることが知られており、単純な観察頻度だけでは判断できない。急性外部被ばく線量評価の指標となる二動原体染色体（Dic）は不安定型染色体異常であり、生物学的半減期が13.5 ～ 18 ヶ月とされている。一方で染色体転座は安定型染色体異常であり、生物学的半減期は50年以上あるいはヒトの寿命よりも長いとされている（J Radiat Res, 2015）。染色体転座解析では、年齢や生活習慣（喫煙や飲酒など）、過去の医療被ばくなどによって異常頻度が左右される可能性が高く、転座形成に影響を及ぼす可能性がある様々な因子についても考慮しなければならない（Mutat Res, 2008. Nature, 2018）。

また、現在用いられている染色体線量評価法は人種差、男女差、年齢差、感受性の違いが無いという前提のもとに行われているが、現実的には放射線治療の効果および正常組織への障害に個人差が存在することから、放射線感受性に個人差が存在することは明らかである（Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2001）。また、罹患している基礎疾患（糖尿病など）によって放射線被ばく後、形成される染色体異常頻度が異なるというマウスの実験例も示されている（Mutat Res, 2011 / 2013）。

これらの事実は被ばく事故における線量評価において大きな齟齬を生じる可能性を示唆しており、本研究で甲状腺がん患者の染色体異常頻度について解析することは放射線被ばくの有無だけでなく、基礎疾患や生活習慣といった各交絡因子の影響について探る上でも非常に重要な研究である。今後は解析患者数を増やし、交絡因子の影響の程度について検討を進めていく所存である。



図：染色体ペインティングによる転座解析像  
正常メタフェーズ（左図、1番：赤、2番：緑、4番：黄）と転座像（右図赤矢印、2番染色体と4番染色体の相互転座）

## 今後の展望

解析患者数を目標に向けて増やす。

発表論文

該当なし

学会発表

該当なし

その他（特許申請，新聞等広報，受賞，特記事項等）

該当なし



# ゲノム編集法を用いた放射線感受性細胞の作製と解析

## 研究組織

拠点機関研究者：松浦 伸也（広島大学原爆放射線医科学研究所：教授）  
川上 秀史（広島大学原爆放射線医科学研究所：教授）  
宮本 達雄（広島大学原爆放射線医科学研究所：講師）  
吉浦 孝一郎（長崎大学原爆後障害医療研究所：教授）

## 研究目的

放射線感受性には遺伝的な個人差があることが知られている。これまでに拠点機関研究者らは、放射線感受性個人差を規定する遺伝的要因を高感度・定量的に評価する実験系を構築してきたが、本研究ではさらに、ゲノム編集法を用いてヒト培養細胞に標的遺伝子変異を導入して、放射線照射したゲノム編集細胞の放射線感受性についてサイトスキャンニング顕微鏡を用いた微小核法により放射線感受性を評価する計画を立てた。

## 研究実施内容

### 1) ゲノム編集法を用いた放射線高感受性遺伝病のモデル細胞の作成

一般に正常組織に由来する細胞は、相同組換え活性が低いために、ゲノム編集法を用いても組換え体を単離することは困難とされていた。そこで本研究では、非相同末端結合経路を利用したゲノム編集法をヒト網膜色素上皮組織由来 hTERT-RPE1 細胞に試みた。hTERT-RPE1 細胞に放射線高感受性遺伝病である毛細血管拡張性運動失調症の原因遺伝子 ATM を標的とするベクターと Cas9 ベクターを導入して、24 時間後からネオマイシンによる薬剤選択を行い、2 週間後に薬剤耐性クローンを単離した。各クローンのゲノム DNA を回収して直接シーケンス法により遺伝子型を判定した。その結果、153 個の ATM<sup>-/-</sup> 細胞と 7 個の ATM<sup>+/-</sup> 細胞が得られ、ゲノム編集法が hTERT-RPE1 細胞を高効率にゲノム編集できることが判明した。

### 2) 放射線高感受性遺伝病家系の皮膚線維芽細胞との比較

毛細血管拡張性運動失調症の家系構成員の皮膚線維芽細胞を入手して、サイトジェネティックススキャンニングシステムを使用して放射線照射後の微小核形成率を検討した。その結果、両親と同胞保因者（ATM<sup>+/-</sup>）は臨床的に全く健常だが、いずれも正常コントロール（ATM<sup>+/+</sup>）よりも微小核形成頻度が高い値を示したことから、放射線高感受性遺伝病のヘテロ保因者が放射線高感受性であることを明らかにした。

さらに、ゲノム編集法を用いて作成した放射線高感受性遺伝病のモデル細胞について、同様にサイトジェネティックススキャンニングシステムを使用して放射線照射後の微小核形成率を検討した。その結果、家系サンプルと同様に、ATM 遺伝子の片アレル性ノックアウトモデル細胞（ATM<sup>+/-</sup>）は、ATM 欠損モデル細胞（ATM<sup>-/-</sup>）と野生型細胞（ATM<sup>+/+</sup>）の中間の感受性を示した。家系サンプルでは、保因者間で、遺伝的背景の違いによると思われる有意な微小核形成能の変動が見られた。一方、ゲノム編集細胞では、同一遺伝子型間で感受性の変動がほとんど見られなかった。以上の結果から、放射線感受性の個人差を検討する上では、ゲノム編集細胞が健常者サンプルよりもより優れていると考えられた。

### 3) ゲノム編集細胞の作成と表現型の解析

放射線高感受性が疑われた遺伝性小頭症患者のモデル細胞を作成した。遺伝的小頭症は遺伝的多様性が知られ、一部の患者は放射線高感受性であることが報告されている。そこで、日本人遺伝性小頭症家系で同定された小頭症遺伝子 WDR62 のミスセンス変異を HCT116 細胞株に導入した。すなわち、Cas9 ベクターとミスセンス変異および BamHI 切断部位を搭載した一本鎖オリゴヌクレオチドをエレクトロポレーション法で HCT116 細胞に導入し、48 時間のピューロマイシン処理後、14 日間培養を継続して細胞コロニーを得た。各クローンの遺伝子型を解析して、2 クローンのミスセンス変異の両アレル編集クローンを樹立した。ミスセンス導入細胞を解析したところ、放射線感受性は正常だったが、微小

管重合能が低下して正常細胞で観察される細胞接地面に対して水平な紡錘体配向が不安定化することを見出した。最終的に、WDR62 が分裂期キナーゼ PLK1 によってリン酸化され、紡錘体を細胞接地面に対して水平に維持する働きがあることを明らかにした。

## 今後の展望

毛細血管拡張性運動失調症をモデルとして、放射線感受性の個人差を規定する遺伝的素因を検討した。その結果、ゲノム編集法が、健常者サンプルよりも、より高感度であることを明らかにした。

海外のグループにより、家族性乳がんや卵巣がんなどのがん患者サンプルで検出される DNA 修復遺伝子変異の数と種類がさらに増えてきている。個人の発がんリスクを推定するためにはこうした DNA 修復遺伝子の変異または多型を網羅的に解析するアプローチと、個々人の放射線感受性を定量化するアプローチを同時に進めていく必要がある。本研究をさらに発展させて、個人の発がんリスク推定の検査法の開発・実用化に結びつけていきたい。

## 発表論文

1. Royba E, Miyamoto T, Natsuko Akutsu S, Hosoba K, Tauchi H, Kudo Y, Tashiro S, Yamamoto T, Matsuura S. Evaluation of ATM heterozygous mutations underlying individual differences in radiosensitivity using genome editing in human cultured cells. *Sci Rep*. 2017 Jul 20;7(1):5996. doi: 10.1038/s41598-017-06393-8
2. Miyamoto T, Akutsu SN, Matsuura S. Updated summary of genome editing technology in human cultured cells linked to human genetics studies. *J Hum Genet*. 2018 Feb;63(2):133-143. doi: 10.1038/s10038-017-0349-z
3. Nagashima H, Shiraishi K, Ohkawa S, Sakamoto Y, Komatsu K, Matsuura S, Tachibana A, Tauchi H. Induction of somatic mutations by low-dose X-rays: the challenge in recognizing radiation-induced events. *J Radiat Res*. 2017 Oct 19:1-7. doi: 10.1093/jrr/rrx053
4. Matsuura S. The effects of radiation on the human body. *Peace Culture (Hiroshima Peace Culture Foundation) Vol 1*. No 78, 9-12, December 2017
5. Miyamoto T, Akutsu SN, Fukumitsu A, Morino H, Masatsuna Y, Hosoba K, Kawakami H, Yamamoto T, Shimizu K, Ohashi H, Matsuura S. PLK1-mediated phosphorylation of WDR62/MCPH2 ensures proper mitotic spindle orientation. *Hum Mol Genet*. 2017 Nov 15;26(22):4429-4440. doi: 10.1093/hmg/ddx330.

## 代表的な学会発表

### 国内学会発表

1. 宮本達雄, Ekaterina Royba, Silvia Natsuko Akutsu, 細羽康介, 田内 広, 山本 卓, 工藤美樹, 田代 聡, 松浦伸也 放射線感受性個人差を規定する遺伝素因の定量的評価としてのヒト培養細胞株におけるゲノム編集 第58回原子爆弾後障害研究会 (広島) 2017年6月4日
2. 宮本達雄, Ekaterina Royba, Silvia Natsuko Akutsu, 田代聡, 山本卓, 松浦伸也 ヒト培養細胞におけるCRISPR-ObLiGaRe法を用いた放射線発がんリスクの個人差を規定する遺伝素因の探索 第2回日本ゲノム編集学会 (大阪) 2017年6月28～30日
3. Ekaterina Royba, 宮本達雄, Silvia Natsuko Akutsu, 細羽康介, 工藤美樹, 田代聡, 山本卓, 松浦伸也 Evaluation of ATM heterozygous mutations underlying individual differences in radiosensitivity using genome editing in human cultured cells 第42回中国地区放射線影響研究会 (広島) 2017年7月27日
4. Tatsuo Miyamoto, Ekaterina Royba, Silvia Natsuko Akutsu, Kosuke Hosoba, Hiroshi Tauchi, Yoshiki Kudo, Satoshi Tashiro, Takashi Yamamoto and Shinya Matsuura Identification of ATM heterozygous mutations underlying individual differences in radiosensitivity using genome editing technology 日本人類遺伝学会第62回大会 (神戸) 2017年11月16～18日
5. Tatsuo Miyamoto, Kosuke Hosoba, Silvia Natsuko Akutsu, Hiroyuki Morino, Akihiro Fukumitsu, Yoshinori Masatsuna, Hideshi Kawakami, Takashi Yamamoto, Kenji Shimizu, Hirofumi Ohashi, Shinya Matsuura PLK1-

mediated phosphorylation of WDR62/MCPH2 is required for proper mitotic spindle orientation 第 75 回日本癌学会  
学術総会（横浜）2017 年 9 月 29 ～ 30 日

6. 宮本達雄, 細羽康介, Silvia Natsuko Akutsu, 福満啓博, 政綱宣規, 森野豊之, 川上秀史, 山本卓, 清水健司, 大橋博文,  
松浦伸也 分裂期キナーゼ PLK1 による遺伝性小頭症原因遺伝子産物 WDR62 のリン酸化を介した細胞分裂軸安定化  
機構 第 60 回日本放射線影響学会（千葉）2017 年 10 月 25 ～ 28 日
7. 宮本達雄, 福満啓博, Silvia Natsuko Akutsu, 政綱宣規, 細羽康介, 山本卓, 松浦伸也 真性小頭症原因遺伝子産  
物 WDR62 による星状体微小管重合を介した細胞分裂軸制御 第 40 回日本分子生物学会年会（神戸）2017 年 12 月  
6 ～ 8 日

#### 国際学会発表

1. Silvia Natsuko Akutsu, Tatsuo Miyamoto, Shinya Matsuura. Unravelling the pathological mechanisms of structure-  
chromosomal instability post IR in PCS(MVA) syndrome. The 7th International symposium of Phoenix Leader  
Education Program for Renaissance from Radiation Disaster (Hiroshima) February 27-28, 2018

#### その他（特許申請, 新聞等広報, 受賞, 特記事項等

1. 中国新聞 H29 年 7 月 21 日「被曝への耐性 遺伝子が関与 広島大グループ実証」

# Mn-56 低線量内部被曝の生物学的影響とその障害メカニズムの解析

## 研究組織

拠点機関研究者：藤本 成明（広島大学原爆放射線医科学研究所：准教授）

中島 正洋（長崎大学原爆後障害医療研究所：教授）

七條 和子（長崎大学原爆後障害医療研究所：助教）

協力者：星 正治（広島大学平和科学研究センター：名誉教授）

高辻 俊之（長崎大学環境科学部：教授）

## 研究目的

放射線影響評価では、外部被曝影響に加え内部被曝影響の評価が重要と考えられているが十分解明されていない。原発事故においても、放射性微粒子等による内部被曝の影響評価は極めて重要な課題である。我々は、広島・長崎原爆の中性子線により土埃中で多量に生成したと考えられる放射性マンガン微粒子による被曝影響に着目し、中性子線照射により生成した<sup>56</sup>MnO<sub>2</sub>(Mn-56)微粒子をラットに曝露する予備的な内部被曝実験を行った。その結果、低線量被曝にもかかわらず、肺において病理組織学的な障害が生じることを見いだした。本研究では予備研究結果をさらに展開し、Mn-56 低線量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することを目的とする。

## 研究実施内容

### 1) Mn-56 微粒子のラットへの曝露

熱中性子フルエンス  $1.6 \times 10^{15}$  n/cm<sup>2</sup> で MnO<sub>2</sub> を放射化して得た Mn-56 微粒子を、10 週齢の雄 Wistar ラットへ 1 時間曝露した (100 mg / 9 rats / box)。内部被曝による被曝吸収線量推定値は、全身で 0.14 Gy、消化管で 1 Gy 以上、肺で 0.11 Gy、他の臓器ではそれ以下であった。対照群として無処置群と非放射性 MnO<sub>2</sub> 曝露群を設定した。また比較のため、<sup>60</sup>Co- $\gamma$  外部照射群 (2 Gy) をおいた。

### 2) 病理学的解析

肺において、その内部被曝線量が 0.1 Gy であったにも係わらず、強い病理組織学的障害が見いだされた。これは、 $\gamma$  線外部照射に比べ 100 倍以上の急性障害性であり、低線量被曝影響に関する重要な発見であった。

### 3) 肺組織での遺伝子発現解析

【材料と方法】 Mn-56 微粒子に曝露後 3、14、60 日後のラットの肺臓組織より total RNA を抽出し cDNA 化した。RT-PCR 法により TGF $\beta$ -Smad シグナル系の遺伝子 (TGF $\beta$ , TGF $\beta$ R, Smad 2, Smad7) およびアクアポリン遺伝子 (AQP1, AQP5) の発現を定量的に解析した。

【結果】 (1) Mn-56 曝露群の肺組織での TGF $\beta$ R mRNA 発現が、対照群に比べ有意に低下した。この発現低下は曝露後 3 日から 60 日目まで継続した。一方、Smad7 遺伝子発現は、曝露 3 日目で一時的に上昇したが、14 日目で対照群のレベルに戻った。TGF $\beta$  と Smad 2 の mRNA 発現レベルには有意な影響はなかった。また 2 Gy の <sup>60</sup>Co- $\gamma$  外部照射群では、いずれの遺伝子の発現にも影響はなかった。(2) 肺組織での AQP5 mRNA 発現が、曝露 3、14、60 日目で、対照群に比べ有意に上昇した。AQP1 mRNA レベルの有意な変化はなかった。また <sup>60</sup>Co- $\gamma$  外部照射においても AQP5 遺伝子発現に上昇傾向が見られた。

【考察】 高線量の肺への外部照射によって肺臓炎から肺線維症が誘発されることはヒトのみならず実験動物でもよく知られる。実際、この障害は放射線治療における主要な線量限界要因となっている。放射線による肺線維化のメカニズムは未だに解明されていないが、TGF $\beta$ -Smad シグナル系遺伝子及びアクアポリン遺伝子の関与が示唆されてきた。そこで我々は、これら肺での放射線障害関連遺伝子の発現を指標として、Mn-56 微粒子曝露の肺への生物効果を検討した。その結果、Mn-56 微粒子による低線量被曝を受けた肺組織で TGF $\beta$ R および AQP5 遺伝子発現の有意な変化が見いだされた。これらの発現変化と肺組織の障害性との関係は不明であるものの、Mn-56 による低線量内部被曝が、<sup>60</sup>Co- $\gamma$  外部被曝に比べて遙かに大きな生物効果を持ちうるということが明らかになった。

## 今後の展望

- 1) DNA 損傷タンパクである 53BP1 の発現の解析等を含む各組織での詳細な病理組織学的解析を行う。
- 2) 肺組織での遺伝子発現解析の結果、低線量の Mn-56 曝露において、高線量の外部被曝で見いだされたのと同様の発現指標の変化が見いだされた。今後、繊維化に関わる遺伝子発現を明らかにすることで、Mn-56 曝露の肺への影響をさらに明らかにする。
- 3) 他臓器（肝臓や精巣等、いずれも 10mGy 程度の吸収線量）においても、‘放射線感受性’ 遺伝子発現を指標にして、その低線量の影響を評価する。

## 発表論文

- 1) Kurohama H, Mihara Y, Izumi Y, Kamata M, Nagashima S, Komori A, Matsuoka Y, Ueki N, Nakashima M, Ito M: Protein induced by vitamin K absence or antagonist II (PIVKA-II) producing large cell neuroendocrine carcinoma (LCNEC) of lung with multiple liver metastases:a case report. *Pathology International* 67, 105-109, 2017.02 (査読有)
- 2) Takahara I, Akazawa Y, Tabuchi M, Matsuda K, Miyaaki H, Kido Y, Kanda Y, Taura N, Ohnita K, Takeshima F, Sakai Y, Eguchi S, Nakashima M, Nakao K: Toyocamycin attenuates free fatty acid-induced hepatic steatosis and apoptosis in cultured hepatocytes and ameliorates nonalcoholic fatty liver disease in mice. *PLoS ONE* 12, e017059, 2017.03 (査読有)
- 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, Toyada 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, Yaskava E, Belukha I, Khailov A, Skvortsov V, Ivannikov A, Akhmedova U, Bogacheva V, Hoshi M: Internal exposure to neutron-activated  $^{56}\text{Mn}$  dioxide powder in wistar rats: part 1: dosimetry. *Radiation and Environmental Biophysics* 56, 47-54, 2017.03 (査読有)
- 4) Shichijo K, Fujimoto N, Uzbekov D, Kairikhanova Y, Saimova A, Chaizhunusova N, Sayakenov N, Shabdarbaeva D, Aukonov 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  $^{56}\text{Mn}$  dioxide powder in wistar rats-Part 2: pathological effects. *Radiation and Environmental Biophysics* 56, 55-61, 2017.03 (査読有)
- 5) Otsubo R, Hirakawa H, Oikawa M, Baba M, Inamasu E, Shibata K, Hatachi T, Matsumoto M, Yano H, Abe K, Taniguchi H, Nakashima M, Nagayasu T: Validation of a novel diagnostic kit using the semidry dot-blot method to detect metastatic lymph nodes in breast cancer: distinguishing macrometastases from nonmacrometastases. *Clinical Breast Cancer* S1526-8209, 30274-4, 2017.07 (査読有)
- 6) Hashiguchi K, Ohba K, Nakashima M: Esophageal keratinous inclusion cyst. *Digestive Endoscopy* 29, 639-640, 2017.07 (査読有)
- 7) Matsubara K, Nakamura N, Sanoh S, Ohta S, Kitamura S, Uramaru N, Miyagawa S, Iguchi T, Fujimoto N: Altered expression of the Olr59, Ethe1, and Slc10a2 genes in the liver of F344 rats by neonatal thyroid hormone disruption. *Journal of Applied Toxicology* 37, 1030-1035, 2017.09 (査読有).
- 8) Kairikhanova Y, Saimova A, Uzbekov D, Chaizhunusova N, Fujimoto N: Effects of exposure to radioactive  $^{56}\text{MnO}_2$  powder on hyaluronan synthase 2 in the lung in rats, *Georgian Medical Journal* 9, 120-124, 2017.09 (査読有).
- 9) Yamashita A, Arai H, Torigoe K, Muraya Y, Nakashima M, Obata Y, Nishino T: A case of minimal change nephrotic syndrome complicated by ovarian vein thrombosis. *Acta medica Nagasakiensis* 61, 41-44, 2017.12 (査読有)
- 10) Kairikhanova Y, Saimova A, Uzbekov D, Chaizhunusova N, Aukonov N, Shichijo K, Nakashima M, Stepanenko V, Rakhypbekov T, Hoshi M, Fujimoto N: Changes in radiation induced injury related gene expression in the lungs of rats exposed to radioactive  $^{56}\text{MnO}_2$  powder, *Radiat Risk*, in press (査読有).



## 主な学会発表

- 1) Miura S, Kondo H, Matsuda K, Matsuyama M, Nakashima M: Evaluation of RNA quality in the nagasaki atomic bomb Survivors'tumor tissue bank. *The 1st International symposium of the network-type joint usage/Research center for radiation disaster medical science*. Hiroshima, Japan, 2017.02.
- 2) Ohnoda T, Matsuda K, Akazawa Y, Ueki N, Yamaguchi Y, Miura S, Kinoshita A, Yoshiura K, Nakashima M: Optimal Conditions of FFPE Samples for Extraction and Molecular Analysis of DNA for Atomic Bomb Survivors. *The United States and Canadian Academy of Pathology (USCAP) 106th Annual Meeting*. San Antonio, U.S.A., 2017.03.
- 3) Mussazhanova Z, Rogounovitch T, Saenko V, Krykpayeva A, Tuleutayev M, Espenbetova M, Yamashita S, Nakashima M: SNP association with risk for sporadic papillary thyroid carcinoma in Kazakh population. *12th Asia and Oceania Thyroid Association (AOTA) Congress*. Busan, Korea, 2017.03.
- 4) Hashiguchi K, Ohnita K, Kitayama M, Matsushima K, Minami H, Akazawa Y, Yamaguchi N, Takeshima F, Nakashima M, Nakao K: Endoscopic features of early duodenal adenocarcinoma/adenoma: tumor size, microvascular/microsurface pattern, and distribution of white opaque substance. *Digestive Disease Week 2017*. Chicago, U.S.A., 2017.05.
- 5) Shichijo K, Fujimoto N, Takatsuji T, Uzbekov D, Ynkar K, 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: Pathological effects in relation to dose level after acute intake of neutron-activated <sup>56</sup>Mn dioxide powder in Wistar rats. 4th Asian Congress of Radiation Research. Astana, Kazakhstan, 2017.08.
- 6) Nakashima M: Profile of gene expression during radiation-induced thyroid carcinogenesis in rat model. *The 13th International scientific-practical conference "Ecology. Radiation. Health"*. Semey, Kazakhstan, 2017.08. [招待講演].
- 7) Fujimoto N, Kairkhanova Y, Saimova A, Uzbekov D, Chaizhunusova N, Shichijo K, Nakashima M, Rakhypbekov T, Stepanenko V, Hoshi M (Hiroshima University, Semey State Medical University, Nagasaki University, Tsyb Medical Radiological Research Center, Obninsk): Internal exposure to radioactive <sup>56</sup>Mn dioxide powder in rats - Effects on gene expressions, *The 13th International scientific-practical conference " Ecology. Radiation. Health"* , Semey, Kazakhstan, 2017.08. [招待講演]
- 8) Nakashima R, Akazawa Y, Miyaaki H, Matsuda K, Nakashima M, Nakao K: Nuclear expression of 53Bp-1, a DNA damage protein, is increased in NAFLD liver and is associated with fibrosis markers. *American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD)*. Washington D.C., U.S.A., 2018.10.
- 9) Matsuda K, Kawasaki T, Akazawa Y, Hasegawa Y, Iseki M, Nakashima M: Significance of p53-binding protein 1 nuclear expression in urothelial tumours: Implication of DNA damage response in association with tumour grades. *29th European Congress of Pathology*. Amsterdam, Netherland, 2017.09.
- 10) Akazawa Y, Nakashima R, Matsuda K, Nakao K, Nakashima M: Increased 53-binding protein 1 nuclear foci expression in the liver of patients with non- alcoholic fatty liver disease. *29th European Congress of Pathology*. Amsterdam, Netherland, 2017.09.
- 11) Nakashima R, Akazawa Y, Miyaaki H, Matsuda K, Nakashima M, Nakao K: Nuclear expression of 53Bp-1, a DNA damage protein, is increased in NAFLD liver and is associated with fibrosis markers. *American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD)*. Washington D.C., U.S.A., 2018.10.
- 12) Fujimoto N, Kitamura S, Uramaru N, Miyagawa S, Iguchi T: Identification of hepatic thyroid hormone-responsive genes in neonatal rats - a search for potential target genes for thyroid hormone-disrupting chemicals, *The 3rd Conference on Advances in Biochemistry and Molecular Biology*, Sanya, China, 2017.12.
- 13) 藤本成明, 北村繁幸, 浦丸直人, 宮川 信一, 井口泰泉: 新生仔ラット肝臓における甲状腺ホルモン応答性遺伝子の同定, 第20回環境ホルモン学会研究発表会, 神戸, 2017.12.



- 14) Shichijo K, Takatsuji T, Fujimoto N, Uzbekov D, Saimova A, Kairkhanova Y, Chaizhunusova N, Rakhypbekov T, Mussazhanova Z, Nakashima M, Hoshi M: Biological effects of internal irradiation by neutron activated  $^{56}\text{MnO}_2$  powder in experimental animals. *5th Shimane-Semey International Symposium*, Izumo, 2018.01. [招待講演]
- 15) Fujimoto N, Kairkhanova Y, Saimova A, Uzbekov D, Chaizhunusova N, Shichijo K, Nakashima M, Rakhypbekov T, Hoshi M (Hiroshima University, Semey State Medical University, Nagasaki University): Effects of exposure to radioactive  $^{56}\text{MnO}_2$  powder on the gene expression of liver in rats *5th Shimane-Semey International Symposium*, Izumo, 2018.01. [招待講演]

その他（特許申請，新聞等広報，受賞，特記事項等）

- 1) 中島正洋：被爆臓器試料デジタル化。読売新聞，2017年8月18日
- 2) 中島正洋：父の献体は何のため 訴えつづけた女性が48年ぶりに見た父の姿 被爆者調査の目的は？ 中京テレビ，2017年9月22日
- 3) 中島正洋：ビンの中のお父さん。中京テレビ，2017年9月23日
- 4) 中島正洋：被爆者の甲状腺がん調査。読売新聞，2017年11月5日

# 放射線照射後のヒト細胞における DNA 二本鎖切断の 正確な修復を促進するシステムの解明

## 研究組織

拠点機関研究者：山内 基弘（長崎大学原爆後障害医療研究所：助教）

堀越 保則（広島大学原爆放射線医科学研究所：助教）

## 研究目的

放射線は様々なタイプの DNA 損傷を引き起こすが、その中でも DNA 二本鎖切断（DSB）は最も修復が難しく、細胞死や染色体異常の原因となる。DSB の正確な修復は、放射線から遺伝情報を守るために必要不可欠である。ヒト細胞には、非相同末端結合（NHEJ）と相同組換え（HR）という 2 つの主要な DSB 修復経路がある。一般的に NHEJ は修復エラーを起こしやすく、HR は無傷の DNA 配列を鋳型として修復するため正確な修復を行う経路と考えられているが、その詳細は不明である。そこで本研究では、siRNA などを用いたスクリーニングにより DSB 修復に関与する多様な蛋白質の DSB 部位への集積をエンドポイントとして正確な修復を促進する新規因子の同定を目的とする。

## 研究実施内容

2009 年に Cimprich のグループによって DSB 修復にかかわる新規因子のスクリーニングが行われ、多数のスプライシング因子が DSB 修復を促進していることが明らかとなった (Paulsen et al. Mol. Cell 2009)。さらに 2012 年、Elledge グループの HR 因子のスクリーニングにより、多数のスプライシング因子が HR に関与していることが示された (Adamson et al. Nat. Cell Biol. 2012)。しかしながら、スプライシング因子が HR においてどのように働いているのかは明らかではない。HR は様々な分子反応から成る複雑な修復経路であるが、大きく分けると DSB 末端の Resection による一本鎖 DNA の生成および一本鎖 DNA への RPA タンパク質の結合（ステップ 1）、一本鎖 DNA への RAD51 タンパク質の結合（ステップ 2）、その後修復完了まで（ステップ 3）の 3 つのステップに分けられる（図 1）。ステップ 1 の一本鎖 DNA への

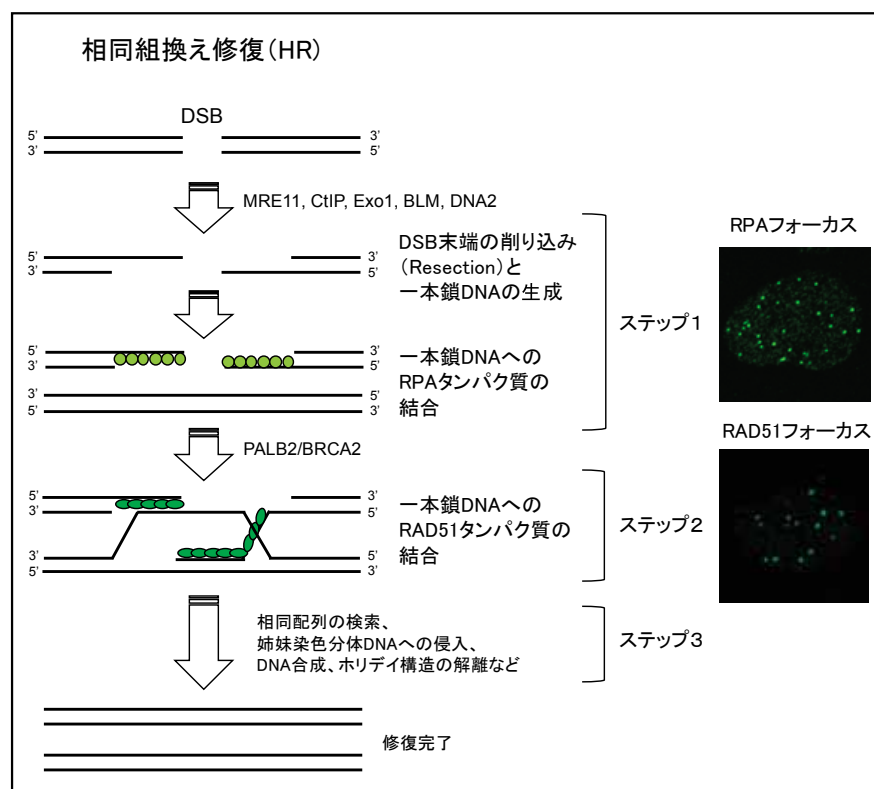


図 1 相同組換え修復 (HR) の各ステップ

RPA タンパク質の結合およびステップ2の一本鎖 DNA への RAD51 タンパク質の結合は、蛍光免疫染色によりそれぞれ RPA フォーカス、RAD51 フォーカスとして顕微鏡下で可視化できる (図1)。そこでこれらのフォーカスを指標にスプライシング因子が HR のどのステップで働いているかを検討した。

なおフォーカス数の定量は CENPF の蛍光強度が強い G2 期の細胞を選択して行った。スプライシング因子としてはスプライソソームの形成に必須の役割を果たしている SART1 タンパク質に着目した。テロメラーゼで不死化した正常ヒト線維芽細胞 BJ-hTERT における 2 Gy 照射後の RPA フォーカスの数を定量したところ、照射 1、2、4、6 時間後のどのタイムポイントでも SART1 をノックダウンした時の方がノックダウンしていない時よりも有意に RPA フォーカスの数が少ないことがわかった (図2 A、B)。この RPA フォーカスの減少は別の siRNA (siSART1#2) を用いた時でも同様に見られた (図2 C)。しかしながら RPA フォーカス陽性細胞の割合は SART1 をノックダウンした場合でもしてい

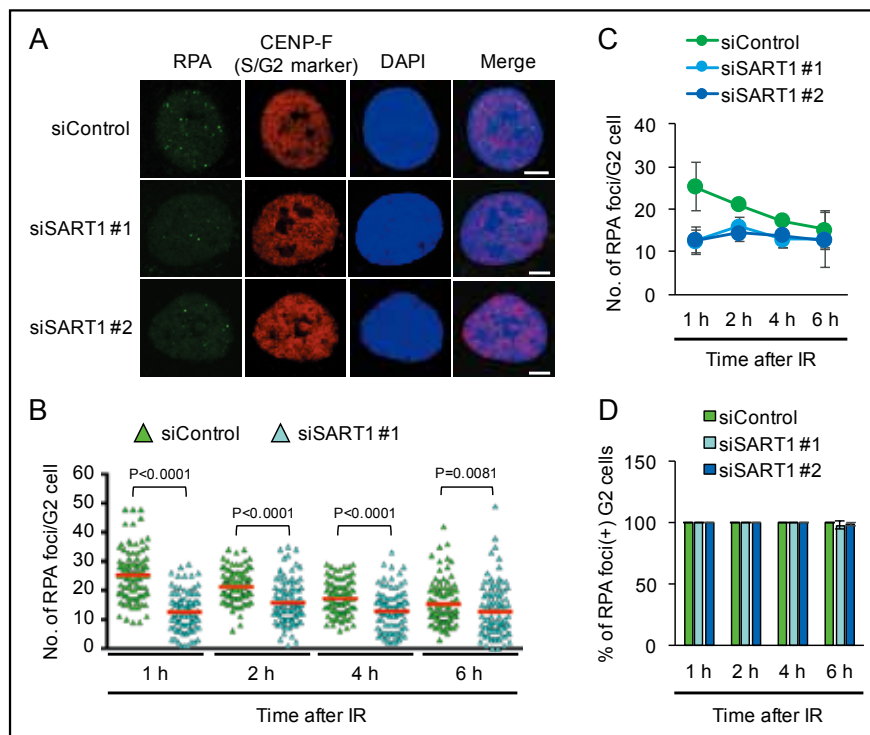


図2 SART1 ノックダウン細胞における RPA フォーカス

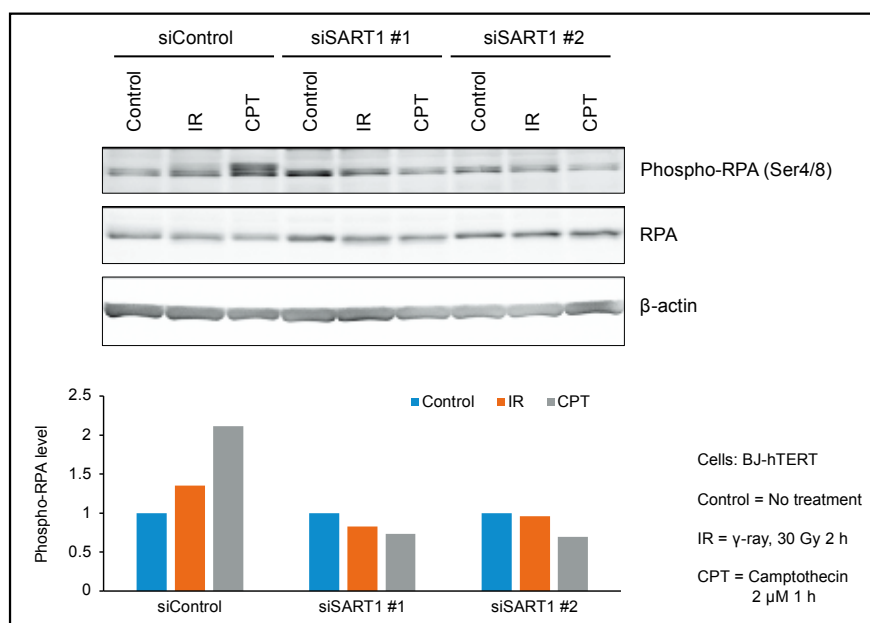


図3 SART1 ノックダウン細胞における RPA リン酸化

ない場合でもほぼ100%であった（図2D）。Resection のもう一つの指標である RPA のセリン 4 / 8 のリン酸化をウェスタンブロットで見たところ、SART1 をノックダウンした細胞では 30 Gy 線照射 2 時間後あるいはカンプトテシン 2  $\mu$ M 処理 1 時間後で RPA のリン酸化レベルの上昇が見られたが、SART1 ノックダウン細胞では見られなかった（図3）。以上の結果から、SART1 は HR における DSB 末端の Resection を促進していると考えられる。

次に、ステップ 2 の一本鎖 DNA への RAD51 タンパク質の結合に対する SART1 の影響を調べた。BJ-hTERT 細胞における 2 Gy 1、2、4、6 時間後の RAD51 フォーカスの数を SART1 ノックダウンの有無で比較したところ、どのタイムポイントでも SART1 をノックダウンした時の方が有意に RAD51 フォーカスの数が少ないことが分かった（図4A、B）。この RAD51 フォーカスの減少は別の SART1 siRNA を用いても同様に見られた（図4C）。また RAD51 フォーカス陽性細胞の割合も SART1 ノックダウン細胞では顕著に低下していた（図4D）。以上の結果から SART1 は一本鎖 DNA への RAD51 タンパク質の結合も促進していることが示唆される。SART1 をノックダウンした時のフォーカスの減少の度合いが RPA よりも RAD51 の方が大きかったので、SART1 は Resection を促進することで RAD51 の一本鎖 DNA への結合を促進しているだけでなく、RAD51 の一本鎖 DNA へのリクルート自体も促進している可能性が考えられる。

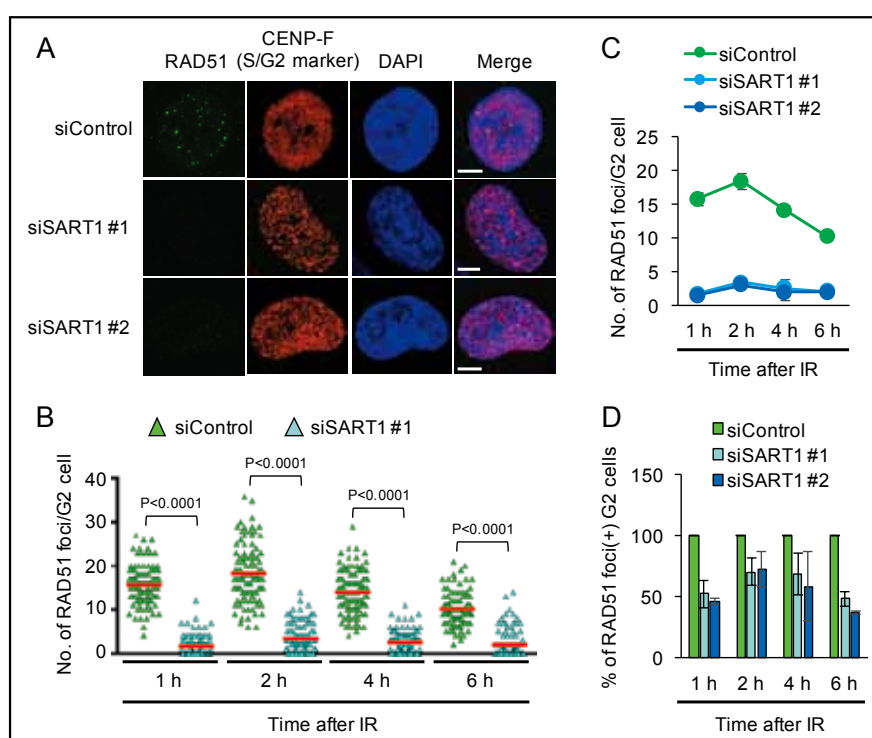


図4 SART1 ノックダウン細胞における RAD51 フォーカス

## 今後の展望

DSB 末端の Resection と RAD51 の一本鎖 DNA へのリクルートの両方を促進している因子に BRCA1 がある。BRCA1 は Resection を阻害する 53BP1 を DSB 末端周辺から除去することで Resection を促進し、また PALB2/BRCA2 との interaction を介して RAD51 の一本鎖 DNA へのリクルートを促進している (Prakash et al. Cold Spring Harbor Perspect. Biol. 2015)。ここまでの研究で SART1 が Resection と RAD51 の一本鎖 DNA へのリクルートの両方を促進していることが示唆されたので、今後は SART1 と BRCA1 が協調してこれらの HR のステップに働いているかどうかを検討する。

## 発表論文

なし

#### 学会発表

山内基弘, 副島悠生, 平川美弥子, 辻田啓子, ハンムームー, 柿田聖太, 柴田淳史, 安原崇哲, 鈴木啓司, 松田尚樹.  
A role of pre-mRNA splicing factor SART1 in DNA double-strand break repair by homologous recombination. 日本放射線影響学会第 60 回大会 2017 年 10 月

山内基弘, 副島悠生, 平川美弥子, 辻田啓子, ハンムームー, 柿田聖太, 柴田淳史, 安原崇哲, 鈴木啓司, 松田尚樹.  
Involvement of pre-mRNA splicing factor SART1 in DNA double-strand break repair by homologous recombination. 第 40 回日本分子生物学会 2017 年 12 月

#### その他（特許申請, 新聞等広報, 受賞, 特記事項等）

なし

# $\alpha$ 線放出核種アスタチン ( $^{211}\text{At}$ ) による細胞死誘導効果 ならびに細胞増殖抑制効果の基礎的研究

## 研究組織

拠点機関研究者：西 弘大（長崎大学原爆後障害医療研究所：助教）

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）

## 研究目的

$\alpha$ 線は高 LET 放射線のため、放射線の直接作用を主として効果的に DNA 二重鎖切断を誘導することで標的細胞に修復困難なダメージを与え、細胞死を誘導する。 $\alpha$ 線放出核種は、強力に細胞増殖を抑制するため、RI 内用療法に用いる核種として有望視されている。本研究では  $^{211}\text{At}$  による DNA ダメージ、細胞周期への影響、アポトーシス誘導を明らかにすることで、 $^{211}\text{At}$  による細胞障害のメカニズムを探る。

## 研究実施内容

がん治療を目的とする  $\alpha$ 線による抗腫瘍効果や安全性の基礎となる  $\alpha$ 線核種標識化合物の体内分布の評価に関する基本的なデータとして、 $\alpha$ 線核種アスタチン 211 ( $^{211}\text{At}$ ) の実験動物における体内動態を解析した。イソフルラン麻酔下で正常マウス (n=25) に  $^{211}\text{At}$  を 0.150 ~ 0.170 MBq 投与し、投与 5 分、1 時間、3 時間、6 時間、24 時間（各群 n= 5）後にイソフルラン麻酔下でマウスを屠殺し、主要な臓器を摘出して重量と放射能を測定した。臓器の  $^{211}\text{At}$  分布は、投与量に対する臓器 1 g 当たりの集積 (%) である %ID/g で表した。

その結果、血液、血漿、心臓、脾臓、膵臓、小腸、大腸、腎臓、副腎、肝臓、骨および褐色脂肪への  $^{211}\text{At}$  集積は時間とともに減少した。胃、精巣への  $^{211}\text{At}$  集積は 1 時間と 3 時間で最も高く、その後時間とともに減少した。顎下腺では投与 6 時間後に最も高い集積を示した。甲状腺への  $^{211}\text{At}$  集積 (% ID) は時間とともに増加した。筋肉、白色脂肪、脳では低い  $^{211}\text{At}$  集積を示した。

## 今後の展望

今後は  $^{211}\text{At}$  による細胞障害のメカニズムに関わる細胞実験を行う。DNA ダメージについては、 $^{211}\text{At}$  曝露後のヒトがん細胞株の細胞核における DNA 切断を計測する。細胞周期への影響については、 $^{211}\text{At}$  曝露後の細胞をエタノール固定後に染色し、フローサイトメーターを用いて  $G_0/G_1$ 、S、 $G_2/M$  の各細胞周期にある細胞分画を分析する。さらに、 $\alpha$ 線によるアポトーシス誘導について検討する予定である。これらの研究により、 $\alpha$ 線による細胞障害のメカニズムを明らかにして放射線災害医療の基礎的なデータとする。

## 発表論文

1. Shimizu A, Kaira K, Okubo Y, Utsumi D, Yasuda M, Tominaga H, Oriuchi N, Kanai Y, Takahashi K, Ishikawa O. Prognostic impact of LAT1 and CD98 expression in cutaneous angiosarcoma. *Neoplasma*. 2017;64(2):283-288. doi: 10.4149/neo\_2017\_216.
2. 腎シンチグラフィ. 泌尿器科検査パーフェクトガイド 臨床泌尿器科 第 71 巻第 4 号. PP64-66. 2017 年 4 月 5 日発行 医学書院 東京
3. FDG-PET/CT. 泌尿器科検査パーフェクトガイド 臨床泌尿器科 第 71 巻第 4 号. PP74-76. 2017 年 4 月 5 日発行 医学書院 東京

## 学会発表

1. Noboru Oriuchi, Hideyuki Tominaga, Songji Zhao, Miho Aoki, Seiichi Takenoshita, Takashi Oda, Ming-Rong Zhang, Kotaro Nagatsu, Tatsuya Higashi, Noriko Ishioka. Production of At-211 by in-house cyclotron and characterization



- at Fukushima Medical University. 日本医学放射線学会総会 横浜 2017 年 4 月 13-16 日
2. 織内 昇, 菅原茂耕, 萱野大樹, 伊藤 浩, 栗生木美穂, 富永英之, 趙 松吉, 永津弘太郎, 張 明榮, 東 達也. 福島県立医科大学における RI 内用療法と新規開発. 第 54 回 腫瘍・免疫核医学研究会 2017 年 4 月 22 日
  3. Miho Aoki, Hideyuki Tominaga Jun Kato, Takashi Oda, Songji Zhao, Toshikazu Hiasa, Noboru Oriuchi, Seiichi Takenoshita. The Production of  $^{211}\text{At}$  at Fukushima Medical University. 10th International Symposium on Targeted Alpha Therapy. Kanazawa, Japan. May 30- June 1, 2017
  4. Noboru Oriuchi. New Treatment Facility and Targeted Alpha-particle Therapy in FMU. FMU-ICRP Workshop on Radiological Protection in Medicine. Fukushima, Japan. October 3, 2017
  5. Shigeyasu Sugawara, Daiki Kayano, Shiro Ishii, Kei ishibashi, Yoshiyuki Kojima, Hiroshi Ito, Noboru Oriuchi. Monitoring of Ra-223 therapy by FDG-PET/MRI and Bone SPECT in CRPC patients with bone metastases. 第 57 回 日本核医学会学術総会 放射線治療セミナー 2017 年 10 月 7 日
  6. 織内 昇.  $\alpha$  線放出核種によるがん治療の進歩と放射線治療の中の位置づけ. 第 57 回 日本核医学会学術総会 放射線治療セミナー 2017 年 10 月 7 日
  7. 織内 昇. 臨床応用に向けた標的アイソトープ治療 (RI 内用療法) の開発について. 第 57 回 日本核医学会学術総会 特別シンポジウム 2017 年 10 月 6 日
  8. Shigeyasu Sugawara, Daiki Kayano, Shiro Ishii, Hirotake Watanabe, Motoharu Hakozaiki, Hiroki Suenaga, Daichi Kuroiwa, Hirofumi Sekino, Osamu Hasegawa, Masayuki Miyajima, Naoto Hashimoto, Hiroshi Ito, Noboru Oriuchi. Setup of radionuclide therapy ward and initial experience of I-131 therapy in Fukushima Medical University Hospital. 第 50 回日本甲状腺外科学会学術集会 2017 年 10 月 26-27 日

その他 (特許申請, 新聞等広報, 受賞, 特記事項等)

## 固形がんに対する包括的癌免疫療法の開発

### 研究組織

拠点機関研究者：大戸 斉（福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授）

鈴木 義行（福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授）

一戸 辰夫（広島大学原爆放射線医科学研究所：教授）

協力者：河野 浩二（福島県立医科大学消化管外科学：教授）

鈴木 弘行（福島県立医科大学呼吸器外科学：教授）

齋藤 清（福島県立医科大学脳神経外科学：教授）

長井 一浩（長崎大学病院細胞療法部：講師）

### 研究目的

癌治療の向上は、放射線障害に伴う発癌対策として重要なテーマである。近年の免疫チェックポイント阻害抗体の成功により、癌免疫療法は多大な進歩を遂げ、更に今後、再生医療を応用した免疫細胞療法との併用など、癌免疫療法は大きく発展しつつある。福島医大では、学内に各課横断的な癌免疫療法チーム（消化管外科、呼吸器外科、脳神経外科、放射線腫瘍科、輸血・移植免疫部）を組織し、細胞プロセッシング室の整備、再生医療新法に対する法的対応を行い、先進医療 A の枠組みで、WT-1 樹状細胞ワクチン療法を展開してきた。今後新たに、①胃がんを対象とした標準的抗がん剤＋WT-1 樹状細胞ワクチン第 2 相試験、②胸腺癌を対象とした WT-1 樹状細胞ワクチン第 2 相試験、③脳腫瘍を対象とした放射線照射＋WT-1 樹状細胞ワクチン第 2 相試験、の各臨床試験を立案し、医師主導型臨床試験（先進医療 B）として AMED との申請協議中である。②に関しては、長崎大学との共同臨床試験としており、既に人的交流、制度的交流を行っている。本申請研究テーマは、再生医療を応用した癌に対する細胞免疫療法の臨床試験に向け、さらに広島大学を含む 3 つの拠点機関が連携して、わが国における包括的癌免疫療法の基盤となる新規技術の開発を目的とする。

### 研究実施内容

- 1) 膵臓癌を対象として、WT1 ペプチドをパルスした自家末梢血単球由来樹状細胞（DC）免疫療法の研究を実施した。第一に、切除可能症例に対する術後アジュバント治療としての臨床的意義を検討し、その安全性を確認すると共に WT1 特異的細胞傷害性 T 細胞の誘導を一部の症例で確認した。第二に、膵臓癌の腫瘍細胞特異的免疫反応を網羅的に探索することを目的として、多数例の血清試料を用いてイムノコンプレキソーム解析を進めている。
- 2) 現在より、有効性の高い腫瘍抗原特異的 T 細胞受容体（TCR）遺伝子導入 T 細胞療法に必要な基盤技術として、次世代シーケンサーを用いた免疫バイオインフォマティクスにより、特定の CD8 エピトープを認識する機能性の高い TCR を網羅的に同定することが可能であることを実証した（プレスリリース：日経バイオテック ONLINE 2017 年 6 月 19 日版掲載）。
- 3) 同種造血細胞移植は、腎細胞癌や膵癌に対する有効性が知られており、包括的癌免疫療法的一端を担い得るが、その臨床開発には重篤な合併症である移植片対宿主病（GVHD）の克服が急務である。そこで、マウスモデルを用いて、GVHD の標的臓器の再生・修復を可能とする新規治療法の探索を行い、骨髓間葉系幹細胞が分泌するナノ粒子（細胞外小胞）が T 細胞の抑制活性を有することを明らかにした（プレスリリース：日本経済新聞 2017 年 12 月 25 日版掲載）。

### 今後の展望

本年度は三大学において、基盤技術の分担開発が進捗し、研究協力機関である長崎大学における WT1 ペプチドパルス DC 療法の臨床試験において、WT1 特異的な CD8+T 細胞応答が確認されたことはプロジェクト全体の大きなマイルストーンである。次年度以降において、血清試料を用いたイムノコンプレキソーム解析や次世代免疫受容体シーケンシングの技術を用いて、腫瘍抗原特異的な B 細胞応答と T 細胞応答の機能的階層性を明らかにし、さらに有効性の高い細胞免疫

療法の臨床開発が期待される。また、並行して、これらの治療によって惹起される免疫学的合併症を制御する技術の開発にも注力し、引き続きヒト骨髄間葉系幹細胞由来ナノ粒子による免疫調節作用の分子機構の解明を目指していきたい。

#### 発表論文

- 1) Kurita N, Gosho M, yokoyama Y, Kato T, Obara N, Kurita N, Gosho M, Yokoyama Y, Kato T, Obara N, Sakata-Yanagimoto M, Hasegawa Y, Uchida N, Takahashi S, Kouzai Y, Atsuta Y, Kurata M, Ichinohe T, Chiba S. A phase I/II trial of intrabone marrow cord blood transplantation and comparison of the hematologic recovery with the Japanese nationwide database. **Bone Marrow Transplant.** 2017 Apr; 53:574-579.
- 2) Yanagisawa R, Koizumi T, Koya T, Sano K, Koido S, Nagai K, Kobayashi M, Okamoto M, Sugiyama H, and Shimodaira S. WT1-pulsed dendritic cell vaccine combined with chemotherapy for resected pancreatic cancer in a phase I study. **Anticancer Res.** 2018 Apr; 38: 2217-2225.
- 3) Iwasa M, Miura Y, Fujishiro A, Fujii S, Sugino N, Yoshioka S, Yokota A, Hishita T, Hirai H, Andoh A, Ichinohe T, Maekawa T. Bortezomib interferes with adhesion of B cell precursor acute lymphoblastic leukemia cells through SPARC up-regulation in human bone marrow mesenchymal stromal/stem cells. **Int J Hematol.** 2017 May;105:587-597.
- 4) Mimura K, Kua LF, Shimasaki N, Shiraishi K, Nakajima S, Siang LK, Shabbir A, So J, Yong WP, Kono K. Upregulation of thioredoxin-1 in activated human NK cells confers increased tolerance to oxidative stress. **Cancer Immunol Immunother.** 2017 May; 66(5):605-613.
- 5) Bakhit MS, Fujii M, Jingui S, Sato T, Sakuma J, Saito K. Jugular foramen collision tumor (schwannoma and plasma cell psudotumor), a probable IgG4-related disease. **World Neurosurg.** 2017 Jun;102: 694.e9-694.e13.
- 6) Shigematsu A, Kako S, Mitsunashi K, Iwato K, Uchida N, Kanda Y, Fukuda T, Sawa M, Senoo Y, Ogawa H, Miyamura K, Takada S, Nagamura-Inoue T, Morishima Y, Ichinohe T, Atsuta Y, Mizuta S, Tanaka J. Allogeneic stem cell transplantation for adults patients with acute lymphoblastic leukemia who had central nervous system involvement: a study from the Adult ALL Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. **Int J Hematol.** 2017 Jun; 105:805-811.
- 7) Muto S, Takagi H, Owada Y, Inoue T, Watanabe Y, Yamaura T, Fukuhara M, Okabe N, Matsumura Y, Hasegawa T, Osugi J, Hoshino M, Higuchi M, Shio Y, Suzuki H. Serum Nitric Oxide as a Predictive Biomarker for Bevacizumab in Non-small Cell Lung Cancer Patients. **Anticancer Res.** 2017 Jun; 37(6): 3169-3174, 2017.
- 8) Mai T, Takano A, Suzuki H, Hirose T, Mori T, Teramoto K, Kiyotani K, Nakamura Y, Daigo Y. Quantitative analysis and clonal characterization of T-cell receptor  $\beta$  repertoires in patients with advanced non-small cell lung cancer treated with cancer vaccine. **Oncol Lett.** 2017 Jun; 14(1): 283-292.
- 9) Miyama T, Kawase T, Kitaura T, Chishaki R, Shibata M, Oshima K, Hamana H, Kishi H, Muraguchi A, Kuzushima K, Saji H, Shin-I T, Suzuki R, Ichinohe T. Highly functional T-cell receptor repertoires are abundant in stem memory T cells and highly shared among individuals. **Sci Rep** 2017 Jun 16;7(1):3663.
- 10) Masuda J, Takayama E, Strober W, Satoh A, Morimoto Y, Honjo Y, Ichinohe T, Tokuno SI, 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 subcutaneous site vs tumor growth in pulmonary site exhibit differential effects on systemic immunities. **Oncol Rep.** 2017 Jul;3 8:449-455.
- 11) Fujii S, Miura Y, Iwasa M, Yoshioka S, Fujishiro A, Sugino N, Kaneko H, Nakagawa Y, Hirai H, Takaori-Kondo A, Ichinohe T, Maekawa T. Isolation of mesenchymal stromal/stem cells from cryopreserved umbilical cord blood cells. **J Clin Exp Hematop.** 2017 Jul;57:1-8.
- 12) Kasai N, Sasakawa A, Hosomi K, Poh TW, Chua BL, Yong WP, So J, Chan SL, Soong R, Kono K. Anti-tumor efficacy evaluation of a novel monoclonal antibody targeting neutral amino acid transporter ASCT2 using patient-derived xenograft mouse models of gastric cancer. **Am J Transl Res.** 2017 Jul; 9(7):3399-3410.

- 13) Terakura S, Kuwatsuka Y, Yamasaki S, Wake A, Kanda J, Inamoto Y, Mizuta S, Yamaguchi T, Uchida N, Kouzai Y, Aotsuka N, Ogawa H, Kanamori H, Nishiwaki K, Miyakoshi S, Onizuka M, Amano I, Fukuda T, Ichinohe T, Atsuta Y, Murata M, Teshima T. GvHD prophylaxis after single-unit reduced intensity conditioning cord blood transplantation in adults with acute leukemia. **Bone Marrow Transplant** 2017 Sep; 52:1261-1267.
- 14) Kondo T, Nagamura-Inoue T, Tojo A, Nagamura F, Uchida N, Nakamae H, Fukuda T, Mori T, Yano S, Kurokawa M, Ueno H, Kanamori H, Hashimoto H, Onizuka M, Takanashi M, Ichinohe T, Atsuta Y, Ohashi K. Clinical impact of pretransplant use of multiple tyrosine kinase inhibitors on the outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for chronic myelogenous leukemia. **Am J Hematol** 2017 Sep; 92:902-908.
- 15) Kawamura K, Kanda J, Fuji S, Murata M, Ikegame K, Yoshioka K, Fukuda T, Ozawa Y, Uchida N, Iwato K, Sakura T, Hidaka M, Hashimoto H, Ichinohe T, Atsuta Y, Kanda Y. Impact of the presence of HLA 1-locus mismatch and the use of low-dose antithymocyte globulin in unrelated bone marrow transplantation. **Bone Marrow Transplant.** 2017 Oct; 52:1390-1398.
- 16) Hoshi K, Matsumoto Y, Ito H, Saito K, Honda T, Yamaguchi Y, Hashimoto Y. A unique glycan-isoform of transferrin in cerebrospinal fluid: a potential diagnostic marker for neurological diseases. **Biochim Biophys Acta.** 2017 Oct; 1861: 2473-2478.
- 17) Iwatate K, Yokoo T, Iwatate E, Ichikawa M, Fujii M, Sakuma J, Saito K. Population characteristics and progressive disability in neurofibromatosis type 2. **World Neurosurg.** 2017 Oct; 106: 653-660.
- 18) Sato H, Niimi A, Yasuhara T, Permata TBM, Hagiwara Y, Isono M, Nuryadi E, Sekine R, Oike T, Kakoti S, Yoshimoto Y, Held KD, Suzuki Y, Kono K, Miyagawa K, Nakano T, Shibata A. DNA double-strand break repair pathway regulates PD-L1 expression in cancer cells. **Nat Commun.** 2017 Nov; 8(1):1751.
- 19) Matsuda F, Ikeda N, Kajimoto Y, Nonoguchi N, Takeuchi K, Fukumura M, Kawabata S, Furuse M, Sugano T, Sato T, Saito K, Kuroiwa T. Neurosurgical microscopic solid laser-based light inhibits photobleaching during fluorescence-guided brain tumor removal with 5-aminolevulinic acid. **Photodiagnosis Photodyn Ther** 2017 Dec; 20: 120-124.
- 20) Kawamura K, Kako S, Mizuta S, Ishiyama K, Aoki J, Yano S, Fukuda T, Uchida N, Ozawa Y, Eto T, Iwato K, Kanamori H, Kahata K, Kondo T, Sawa M, Ichinohe T, Atsuta Y, Kanda Y. Comparison of conditioning with fludarabine/busulfan and fludarabine/melphalan in allogeneic transplantation recipients 50 years or older. **Biol Blood Marrow Transplant.** 2017 Dec; 23:2079-2087.
- 21) Mimura K, Teh JL, Okayama H, Shiraishi K, Kua LF, Koh V, Smoot DT, Ashktorab H, Oike T, Suzuki Y, Fazreen Z, Asuncion BR, Shabbir A, Yong WP, So J, Soong R, Kono K. PD-L1 expression is mainly regulated by interferon gamma associated with JAK-STAT pathway in gastric cancer. **Cancer Sci.** 2018 Jan;109(1):43-53.
- 22) Saito M, Suzuki H, Kono K, Takenoshita S, Kohno T. Treatment of lung adenocarcinoma by molecular-targeted therapy and immunotherapy. **Surg Today.** 2018 Jan; 48(1): 1-8.
- 23) Saito M, Saito K, Shiraishi K, Maeda D, Suzuki H, Minamiya Y, Kono K, Kohno T, Goto A. Identification of candidate responders for anti-PD-L1/PD-1 immunotherapy, Rova-T therapy, or EZH2 inhibitory therapy in small-cell lung cancer. **Mol Clin Oncol.** 2018 Feb; 8(2): 310-314.
- 24) Sundar R, Rha SY, Yamaue H, Katsuda M, Kono K, Kim HS, Kim C, Mimura K, Kua L-F, Yong WP. A phase I/Ib study of OTSGC-A24 combined peptide vaccine in advanced gastric cancer. **BMC Cancer.** 2018 Mar; 18(1):332.
- 25) Minamikawa K, Shibata M, Gonda K, Ujiie D, Ashizawa M, Nakajima T, Okayama H, Sakamoto W, Saito M, Momma T, Mimura K, Ohki S, Shimura T, Ohto H, Takenoshita S, Kono K. IL-17 and VEGF are significantly associated with disease progression involving systemic inflammation in patients with gastric and colorectal cancers. **Ann Cancer Res Ther.** 2017; 25(2):67-76.
- 26) Yoshimitsu M, Tanosaki R, Kato K, Ishida T, Choi I, Takatsuka Y, fukuda T, eto T, Hidaka M, Uchida N, Miyamoto T, Nakashima Y, Moriuchi Y, Nagafuji K, Miyazaki Y, Ichinohe T, Takanashi M, Atsuta Y, Utsunomiya A; ATL Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Risk assessment in adult

- T cell leukemia/lymphoma treated with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Biol Blood Marrow Transplant. Epub 2017 Nov 16.**
- 27) Yamamoto C, Ogawa H, Fukuda T, Igarashi A, Okumura H, Uchida N, Hidaka M, Nakamae H, Matsuoka KI, Eto T, Ichinohe T, Atsuta Y, Kanda Y. Impact of a low CD34+ cell dose on allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. **Biol Blood Marrow Transplant. Epub 2017 Nov 28.**
  - 28) Iida S, Ichinohe T, Shinagawa A, Suzuki K, Takezako N, Aoki M. Safety and efficacy of daratumumab in combination with bortezomib and dexamethasone in Japanese patients with relapsed or refractory multiple myeloma. **Int J Hematol. Epub 2017 Dec 19.**
  - 29) Arima N, Kanda J, Tanaka J, Yabe T, Morishima Y, Kim SW, Najima Y, Ozawa Y, Eto T, Kanamori H, Mori T, Kobayashi N, Kondo T, Nakamae H, Uchida N, Inoue M, Fukuda T, Ichinohe T, Atsuta Y, Kanda Y. Homozygous HLA-C1 is associated with reduced risk of relapse after HLA-matched transplantation in patients with myeloid leukemia. **Biol Blood Marrow Transplant. Epub 2017 Dec 27.**
  - 30) Ogawa H, Ikegame K, Daimon T, Uchida N, Fukuda T, Kakihiira K, Eto T, Ozawa Y, Kanamori H, Hidaka M, Iwato Y, Ichinohe T, Takanashi M, Atsuta Y, Kanda Y. Impact of pretransplantation leukemic blast% in bone marrow and peripheral blood on transplantation outcomes of patients with acute myeloid leukemia undergoing allogeneic stem cell transplantation in non-CR. **Bone Marrow Transplant. Epub 2018 Jan 12.**
  - 31) Kikuchi J, Kuroda Y, Koyama D, Osada N, Izumi T, Yasui H, Kawase T, Ichinohe T, Furukawa Y. Myeloma cells are activated in bone marrow microenvironment by the CD180/MD-1 complex which senses lipopolysaccharide. **Cancer Res. Epub 2018 Jan 23.**
  - 32) Murakami Y, Ichikawa M, Bakhit M, Jinguji S, Sato T, Fujii M, Sakuma J, Saito K. Palliative shunt surgery for patients with leptomeningeal metastasis. **Clin Neurol Neurosurg. Epub 2018 Mar 12.**
  - 33) Ichinohe T, Miyama T, Kawase T, Honjo Y, Kitaura K, Sato H, Shin-I T, Suzuki R. Next-generation immune repertoire sequencing as a clue to elucidate the landscape of immune modulation by host-gut microbiome interactions. **Front Immunol. Epub 2018 Mar 19.**
  - 34) Takeda K, Kitaura K, Suzuki R, Owada Y, Muto S, Okabe N, Hasegawa T, Osugi J, Hoshino M, Tsunoda T, Okumura K, Suzuki H. Quantitative T-cell repertoire analysis of peripheral blood mononuclear cells from lung cancer patients following long-term cancer peptide vaccination. **Cancer Immunol Immunother. Epub 2018 Mar 22.**
  - 35) Kono K, Mimura K, Yamada R, Ujiie D, Hayase S, Tada T, Hanayama H, Aung Kyi Thar Min, Shibata M, Momma T, Saze Z, Ohki S. Current status of cancer immunotherapy for esophageal squamous cell carcinoma. **Esophagus. 2018 (in press)**
  - 36) Sing LK, Mimura K, Kono K. Implication of highly cytotoxic natural killer cells for esophageal squamous cell carcinoma treatment. **Journal of Immunother. 2018 (in press)**
  - 37) 大和田有紀, 井上卓哉, 渡邊 譲, 福原光朗, 山浦 匠, 武藤哲史, 松村勇輝, 長谷川剛生, 田中大輔, 菅野 亮, 伊藤恵美, 七宮英晃, 今井順一, 磯貝隆夫, 渡辺慎哉, 鈴木弘行. 非小細胞肺癌における免疫チェックポイント阻害薬の新たなバイオマーカー抽出の可能性. 癌と化学療法. 2017; 44(9): 763 -766.
  - 38) 鈴木弘行, 高木玄教, 大和田有紀, 渡邊 譲, 井上卓哉, 福原光朗, 山浦 匠, 武藤哲史, 岡部直行, 長谷川剛生, 塩 豊. 肺癌に対する免疫療法の歴史とがんワクチン療法. 癌と化学療法. 2017; 44 ( 8 ) : 646-649.
  - 39) 武藤哲史, 鈴木弘行. 非小細胞肺癌に対するがん免疫療法の進歩. 癌と化学療法. 2018; 45 ( 2 ) : 212-216.
  - 40) 佐藤浩史, 吉本由哉, 鈴木義行, 腫瘍に対する放射線治療 放射線治療による抗腫瘍免疫誘導機序. 日本臨床. 2017;75(8) : 1289-1293.
  - 41) 吉本由哉, 佐藤浩史, 鈴木義行, 放射線治療により誘導される抗腫瘍免疫と“免疫放射線療法”, 臨床放射線. 2017; 62(12) : 1663-1671.
  - 42) 吉本由哉, 鈴木義行, 「がん分子標的治療」免疫療法を含む併用療法免疫療法と放射線療法の併用療法, がん分子標的治療. 2017; 15(2) : 164-168.



## 代表的な学会発表

- 1) Sato T, Suzuki K, Sakuma J, Ito Y, Murakami Y, Jinguji S, Fujii M, Saito K: New intraoperative laser light imaging to simultaneously visualize visible light and near-infrared fluorescence for ICG. 2017 AANS Annual Scientific Meeting. 2017 年 4 月.
- 2) 大和田有紀, 井上卓哉, 渡邊 譲, 福原光朗, 山浦 匠, 武藤哲史, 松村勇輝, 長谷川剛生, 樋口光徳, 田中大輔, 菅野 亮, 伊藤恵美, 七宮英明, 今井順一, 磯貝隆夫, 渡辺慎哉, 鈴木弘行. 非小細胞肺癌における分子免疫プロファイル解析～免疫チェックポイント阻害薬の新たなバイオマーカー抽出の可能性～. 第 117 回日本外科学会定期学術集会. 2017 年 4 月. 横浜
- 3) 福原光朗, 鈴木 理, 大和田有紀, 渡邊 譲, 井上卓哉, 山浦 匠, 武藤哲史, 長谷川剛生, 樋口光徳, 鈴木弘行. 胸腺上皮性腫瘍切除症例の PDL1 発現と臨床像の検討. 第 117 回日本外科学会定期学術集会. 2017 年 4 月.
- 4) 井上卓哉, 高木玄教, 大和田有紀, 渡邊 譲, 福原光朗, 山浦 匠, 武藤哲史, 岡部直行, 松村勇輝, 長谷川剛生, 鈴木弘行. 非小細胞肺癌における PD-L1, PD-L2 の遺伝子発現の検討. 第 34 回日本呼吸器外科学会総会. 2017 年 5 月.
- 5) 大和田有紀, 井上卓哉, 福原光朗, 山浦 匠, 武藤哲史, 松村勇輝, 長谷川剛生, 田中大輔, 菅野 亮, 伊藤恵美, 七宮英明, 今井順一, 磯貝隆夫, 渡辺慎哉, 鈴木弘行. 非小細胞肺癌における免疫チェックポイント阻害薬の新たなバイオマーカー抽出の可能性. 第 34 回日本呼吸器外科学会総会. 2017 年 5 月.
- 6) 武藤哲史, 大和田有紀, 井上卓哉, 山浦匠, 福原光朗, 松村勇輝, 長谷川剛生, 鈴木弘行. 肺癌での PD-L1 発現の不均一性と, 早期肺癌での PD-L1 発現程度. 第 34 回日本呼吸器外科学会総会 2017 年 5 月.
- 7) 山浦 匠, 大和田有紀, 井上卓哉, 福原光朗, 武藤哲史, 長谷川剛生, 鈴木弘行. 当院における EGFR-TKI 耐性獲得後 re-biopsy の現状. 第 34 回日本呼吸器外科学会総会. 2017 年 5 月.
- 8) 大和田有紀, 井上卓哉, 福原光朗, 山浦匠, 武藤哲史, 長谷川剛生, 鈴木弘行. 非小細胞肺癌に対する Nivolumab の使用経験. 第 38 回癌免疫外科学研究会. 2017 年 5 月.
- 9) Takumi Yamaura, Naoyuki Okabe, Hironori Takagi, Yuki Owada, Takuya Inoue, Yuzuru Watanabe, Mitsuro Fukuhara, Satoshi Muto, Yuki Matsumura, Takeo Hasegawa, Mika Hoshino, Jun Osugi, Yutaka Shio, Junji Ezaki, Shinya Watanabe, Hiroiyuki Suzuki. Clinical and therapeutic impact of family with sequence similarity 83, member B in EGFR gene wild type lung adenocarcinoma. 2017 ASCO Annual Meeting. 2017 年 6 月.
- 10) Yuki Owada, Satoshi Muto, Hironori Takagi, Takuya Inoue, Yuzuru Watanabe, Takumi Yamaura, Mitsuro Fukuhara, Naoyuki Okabe, Yuki Matsumura, Takeo Hasegawa, Jun Ohsugi, Daisuke Tanaka, Emi Ito, Hideaki Nanamiya, Junichi Imai, Takao Isogai, Shinya Watanabe, Hiroiyuki Suzuki. Correlation between mutation burden of tumor and immunological/clinical parameters in considering biomarkers of immune checkpoint inhibitors for nonsmall cell lung cancer (NSCLC). 2017 ASCO Annual Meeting. 2017 年 6 月.
- 11) Suzuki H, Owada Y, Inoue T, Fukuhara M, Yamaura T, Muto S, Hasegawa T, Shio Y. Recent advances in immunotherapy for non-small cell lung cancer—Current status and future perspectives—, シンポジウム. 第 21 回日本がん免疫学会総会. 2017 年 6 月.
- 12) Tatsuo Ichinohe: Next-generation sequencing-based immunobioinformatics: toward a comprehensive understanding of the human immune system. The Joint Congress of the 19th International symposium on Gnotobiology, the 50th Congress of Japanese Association of Germfree Life and Gnotobiology and the 39th Congress of the Society for Microbial Ecology and Disease. 2017 年 6 月.
- 13) 藤本保志, 高橋正克, 藤井正純, 岩味健一郎, 立花英二, 丸尾貴志, 西尾直樹, 都築秀典, 亀井 譲, 齋藤 清: 聴器癌進行例に対して側頭骨垂全摘術は有効である. 第 29 回日本頭蓋底外科学. 2017 年 6 月.
- 14) 岩味健一郎, 藤井正純, 岸田悠吾, 神宮字伸哉, 山田昌幸, 西尾直樹, 藤本保志, 高成啓介, 亀井 譲, 齋藤 清: 頭頸部悪性腫瘍に対する頭蓋底手術: 経頭蓋蝶形骨洞開放の有用性について. 第 29 回日本頭蓋底外科学. 2017 年 6 月.
- 15) 大和田有紀, 上野智史, 井上卓哉, 福原光朗, 山浦 匠, 武藤哲史, 長谷川剛生, 塩 豊, 鈴木弘行. Nivolumab の投与経験と予測因子探索の可能性. 第 56 回日本肺癌学会東北支部会. 2017 年 7 月.
- 16) 鈴木弘行. 免疫チェックポイントの基礎と臨床. 第 111 回日本肺癌学会中部支部学術集会. 2017 年 9 月. 名古屋



- 17) 齋藤 清, 岩味健一郎, 岸田悠吾, 渡邊 督, 佐藤 拓, 市川優寛, 岩橋兼尚, 神宮字伸哉, 藤井正純, 佐久間 潤: 脊索腫に対する治療戦略と課題. 第 22 回日本脳腫瘍の外科学会. 2017 年 9 月.
- 18) Seitaro Terakura, Yachiyo Kuwatsuka, Satoshi Yamasaki, Atsushi Wake, Junya Kanda, Yoshihiro Inamoto, Shuichi Mizuta, Takujito Yamaguchi, Naoyuki Uchida, Yasuji Kozai, Nobuyuki Aotsuka, Hiroyasu Ogawa, Heiwa Kanamori, Kaichi Nishiwaki, Shigesaburo Miyakoshi, Makoto Onizuka, Itsuto Amano, Takahiro Fukuda, Tatsuo Ichinohe, Yoshiko Atsuta, Makoto Murata, Takanori Teshima. GVHD prophylaxis after single-unit reduced intensity conditioning CBT in adults with acute leukemia. 第 79 回日本血液学会学術集会. 2017 年 10 月.
- 19) Jiro Kikuchi, Yoshiaki Kuroda, Daisuke Koyama, Naoki Osada, Tohru Izumi, Hiroshi Yasui, Takakazu Kawase, Tatsuo Ichinohe, Yusuke Furukawa. The Toll-like receptor CD180 pathway mediates infection-triggered progression in multiple myeloma. 第 79 回日本血液学会学術集会. 2017 年 10 月.
- 20) Hideki Nakasone, Ken Tabuchi, Naoyuki Uchida, Yuju Ohno, Satoshi Takahashi, Yoshiko Matsuhashi, Yasuji Kozai, Shigesaburo Miyakoshi, Takahiro Fukuda, Tatsuo Ichinohe, Yoshiko Atsuta, Minoko Takanashi, Koji Kato, Hiromasa Yabe, Yoshinobu Kanda. Priority of CD34+ cells or TNC to select cord blood units below optimal cell doses for HCT. 第 79 回日本血液学会学術集会. 2017 年 10 月.
- 21) Masaki Iwasa, Yasuo Miura, Aya Fujishiro, Sumie Fujii, Noriko Sugino, Satoshi Yoshioka, Hideyo Hirai, Akira Andoh, Tatsuo Ichinohe, Taira Maekawa. Bortezomib contributes to the elimination of B-ALL cells through SPARC upregulation in BM-MSCs. 第 79 回日本血液学会学術集会. 2017 年 10 月.
- 22) Tatsuo Ichinohe, Kenshi Suzuki, Shinsuke Iida, Naoki Takazako, Atsushi Shinagawa, Masayuki Aoki. Daratumumab with Bortezomib+Dexamethasone in Japanese pts with Relapsed/Refractory multiple myeloma. 第 79 回日本血液学会学術集会. 2017 年 10 月.
- 23) Takashi Ikeda, Keita Mori, Koji Kawamura, Takehiko Mori, Shotaro Hagiwara, Yasunori Ueda, Kaoru Kahata, Naoyuki Uchida, Nobuhiro Tsukada, Satoshi Murakami, Masahide Yamamoto, Tsutomu Takahashi, Tatsuo Ichinohe, Makoto Onizuka, Yoshiko Atsuta, Yoshinobu Kanda, Shinichiro Okamoto, Kazutaka Sunami. Allogenic SCT for multiple myeloma relapsing or progressing after prior autologous SCT: JSHCT MM-WG. 第 79 回日本血液学会学術集会. 2017 年 10 月.
- 24) Kayo Toishigawa, Tomoko Inoue, Yoshiko Okikawa, Hisao Nagoshi, Takahiko Miyama, Takakazu Kawase, Noriyasu Fukushima, Tatsuo Ichinohe. CD56 expression in adult B-cell precursor lymphoblastic leukemia harboring MLL-AF4 rearrangement. 第 79 回日本血液学会学術集会. 2017 年 10 月.
- 25) 美山貴彦, 川瀬孝和, 本庶仁子, 北浦一孝, 新井理, 鈴木隆二, 一戸辰夫. 骨髄非破壊の前処置を用いた同種造血幹細胞移植後に残存するレシピエント由来微小 T 細胞クローンの解析. 第 26 回日本組織適合性学会大会. 2017 年 10 月.
- 26) 鈴木弘行. がん免疫療法の課題と展望～副作用対策を含めて～. 第 30 回日本バイオセラピー学会学術集会総会 2017.11.30-12.1 岐阜
- 27) 尾崎有紀, 井上卓哉, 福原光朗, 山浦 匠, 武藤哲史, 長谷川剛生, 塩 豊, 西山恭子, 錫谷達夫, 鈴木弘行. Nivolumab 投与症例における腸内・口腔内環境の検討. 第 30 回日本バイオセラピー学会学術集会総会 2017.11.30-12.1 岐阜
- 28) 武藤哲史, 尾崎有紀, 井上卓哉, 山浦 匠, 福原光朗, 長谷川剛生, 塩 豊, 鈴木弘行. Vimentin, PD-L1 の発現と Nivolumab の治療効果との関係. 第 30 回日本バイオセラピー学会学術集会総会 2017.11.30-12.1 岐阜
- 29) 長谷川剛生, 尾崎有紀, 井上卓哉, 山浦 匠, 福原光朗, 武藤哲史, 塩 豊, 鈴木弘行. 原発性肺癌患者に対する nivolumab 投与症例における有害事象の検討. 第 30 回日本バイオセラピー学会学術集会総会 2017.11.30-12.1 岐阜
- 30) 岡部直行, 鈴木弘行. 当院における非小細胞肺癌に対する免疫チェック阻害薬の使用経験. 第 30 回日本バイオセラピー学会学術集会総会 2017.11.30-12.1 岐阜
- 31) 鈴木弘行. 免疫チェックポイント阻害薬におけるバイオマーカー研究の現状. 第 30 回日本バイオセラピー学会学術集会総会 2017.11.30-12.1 岐阜
- 32) 大和田有紀, 井上卓哉, 福原光朗, 山浦 匠, 武藤哲史, 長谷川剛生, 塩 豊, 鈴木弘行. 免疫チェックポイント

阻害薬の効果予測因子を探る. 第6回日本免疫・細胞治療学会学術総会 2017.12.9 東京

- 33) Shinichi Kako, Shin-ichiro Fujiwara, Miki Sato, Shun-ichi Kimura, Hideki Nakasone, Kazuteru Ohashi, Michihiro Hidaka, Tetsuo Maeda, Takanobu Morishita, Ritsuro Suzuki, Takahiro Fukuda, Tatsuo Ichinohe, Mio Kurata Yoshiko Atsuta, Yoshinobu Kanda. Safety and efficacy of once-daily intravenous busulfan in allogeneic transplantation: a matched-pair analysis. American Society of Hematology 59th Annual Meeting and Exposition. 平成 29 年 12 月.
- 34) Kaito Harada, Shinichiro Machida, Masamitsu Yanada, Heiwa Kanamori, Makoto Onizuka, Yukiyasu Ozawa, Hikaru Kobayashi, Masashi Sawa, Junya Kanda, Tatsuo Ichinohe, Yoshiko Atsuta, Shingo Yano. Melphalan dose in patients with acute myeloid leukemia undergoing allogeneic stem cell transplantation with reduced-intensity fludarabine and melphalan. American Society of Hematology 59th Annual Meeting and Exposition. 平成 29 年 12 月.
- 35) Sumie Fujii, Yasuo Miura, Aya Fujishiro, Takero Shindo, Yutaka Shimazu, Hideyo Hirai, Akifumi-Takaori-Kondo, Tatsuo Ichinohe, Taira Maekawa. Human bone marrow mesenchymal stromal/stem cell-derived extracellular vesicles ameliorate graft-versus-host diseases-related manifestations. American Society of Hematology 59th Annual Meeting and Exposition. 平成 29 年 12 月.
- 36) Takahiko Miyama, Takakazu Kawase, Yasuko Honjo, Kazutaka Kitaura, Tadasu Shin-I, Ryuji Suzuki and Tatsuo Ichinohe. Landscape of immune reconstitution after allogeneic hematopoietic cell transplantation is superdominated by distinct T cell populations bearing T-cell receptor clonotypes shared among different individuals. American Society of Hematology 59th Annual Meeting and Exposition. 平成 29 年 12 月.
- 37) Suzuki Y, Radiation induced anti-tumor immunity and the possibility of Immuno-Radiotherapy, Seoul National University Cancer Hospital Symposium 2017 “The FIRST in Oncology”, Seoul, KOREA, 2017 (招待講演)
- 38) 鈴木義行：特別講演「放射線による抗腫瘍免疫の活性化と“免疫放射線療法 (Immuno-Radiotherapy)”の可能性」. 第2回日本臨床免疫腫瘍再生細胞療法 (IOC) 研究会. 2017 年
- 39) 鈴木義行：特別講演「最新の放射線治療と免疫放射線療法の可能性」. 第28回福島県小児外科研究会. 2017 年.
- 40) 鈴木義行：特別講演「放射線による抗腫瘍免疫の活性化と“免疫放射線療法 (Immuno-Radiotherapy)”の可能性」. 第418回放射線治療談話会. 2017 年
- 41) 美山貴彦, 川瀬孝和, 枝廣太郎, 鈴木源晟, 土石川佳世, 森岡健彦, 名越久朗, 今川潤, 三原圭一郎, 福島伯泰, 本庶仁子, 北浦一孝, 新井理, 鈴木隆二, 一戸辰夫. 次世代シーケンサーを用いた同種造血幹細胞移植後に残存する微小レシピエント T 細胞クローンの解析. 第40回日本造血細胞移植学会総会. 2018 年 2 月.
- 42) 藤井紀恵, 三浦康生, 藤城綾, 進藤岳郎, 島津裕, 平位英世, 高折晃史, 一戸辰夫, 前川平. ヒト骨髓間葉系幹細胞由来細胞外小胞はナイーブ制御性 T 細胞を保持し, 急性移植片対宿主病を緩和する. 第40回日本造血細胞移植学会総会. 2018 年 2 月.
- 43) Nobuaki Nakano, Atae Utsunomiya, Hiroshi Fujiwara, Shigeo Fuji, Yoshifusa Takatsuka, Takahiro Fukuda, Toshihiro Miyamoto, Kaname Miyashita, Hirohisa Nakamae, Yasushi Sawayama, Mitsuhiro Yuasa, Tatsuo Ichinohe, Yoshiko Atsuta, Koji Kato. Impact of chromosomal abnormality in ATL patients who received allo-HSCT-Reviewed by JSHCT-ATL-WG. 第40回日本造血細胞移植学会総会. 2018 年 2 月.
- 44) Satoshi Yamasaki, Dai Chihara, Sung-Won Kim, Koji Izutsu, Kouji Iwato, Takahiro Fukuda, Naoyuki Uchida, Itsuto Amano, Hideyuki Nakazawa, Junya Kuroda, Hisako Hashimoto, Tatsuo Ichinohe, Yoshinobu Kanda, Yoshiko Atsuta, Junji Suzumiya, Ritsuro Suzuki. Impact of HSCT for relapsed or refractory mantle cell lymphoma patients in the rituximab era. 第40回日本造血細胞移植学会総会. 2018 年 2 月.
- 45) 稲本賢弘, 松田智大, 田渕健, 黒澤彩子, 土岐典子, 岩戸康治, 森毅彦, 高橋聡, 矢部普正, 河野彰夫, 中前博久, 福田隆浩, 一戸辰夫, 熱田由子, 山下卓也. 造血細胞移植後の二次固形がんの予後解析: JSHCT WG 研究. 第40回日本造血細胞移植学会総会. 2018 年 2 月.
- 46) 森岡健彦, 枝廣太郎, 鈴木源晟, 土石川佳世, 美山貴彦, 名越久朗, 川瀬孝和, 杉原清香, 今川潤, 三原圭一郎, 福島伯泰, 一戸辰夫. 生着までに3回の臍帯血移植を実施した非寛解期急性骨髄性白血病. 第40回日本造血細胞移植学会総会.

2018年2月.

- 47) 土石川佳世, 井上暢子, 沖川佳子, 美山貴彦, 名越久朗, 川瀬孝和, 枝廣太郎, 鈴木源晟, 森岡健彦, 杉原清香, 今川潤, 三原圭一郎, 福島伯泰, 一戸辰夫. 妊娠中に発症した MLL-AF4 陽性急性リンパ性白血病に対する早期の同種造血幹細胞移植の経験. 第40回日本造血細胞移植学会総会. 2018年2月.
- 48) Shinichi Kako, Shinichiro Fujiwara, Miki Sato, Shun-ichi Kimura, Hideki Nakasone, Kazuteru Ohashi, Michihiro Hidaka, Tetsuo Maeda, Takanobu Morishita, Ritsuro Suzuki, Takahiro Fukuda, Tatsuo Ichinohe, Mio Kurata, Yoshiko Atsuta, Yoshinobu Kanda. Efficacy of once-daily intravenous busulfan in allogeneic transplantation: a matched-pair analysis. 第40回日本造血細胞移植学会総会. 2018年2月.
- 49) 鈴木義行: 特別講演「放射線による抗腫瘍免疫の活性化と”免疫放射線療法”の可能性」放射線障害防止中央協議会・平成29年度放射線安全管理研修会. 2018年.
- 50) 鈴木義行: “切らずに治す”: 最新の放射線治療, 第6回がんのリハビリテーション勉強会. 2018年.
- 51) 鈴木義行: 放射線による抗腫瘍免疫の活性化と”免疫放射線療法”の可能性, 放射線障害防止中央協議会・平成29年度放射線安全管理研修会. 2018年.
- 52) 鈴木義行: 放射線による抗腫瘍免疫の活性化と”免疫放射線療法 (Immuno-Radiotherapy)”の可能性. 第9回日本放射線外科学会. 2018年.

その他(本課題に関連する特許申請, 新聞等広報, 受賞等)

- 1) 広島大学プレスリリース: <https://www.hiroshima-u.ac.jp/rbm/news/40259>
- 2) 広島大学プレスリリース: <https://www.hiroshima-u.ac.jp/research/news/43093>
- 3) 日経バイオテク法人版 ONLINE: 「広島大学など, 高い免疫応答性を示す T 細胞の TCR を解析」, 2017年6月19日.
- 4) 日本経済新聞電子版: <https://www.nikkei.com/article/DGXMZO25019590U7A221C1TJM000/> 2017年12月24日.
- 5) 日本経済新聞: 「骨髄移植の副作用微粒子投与で抑制」Science & Tech フラッシュ, 2017年12月25日.
- 6) 特許申請 「大腸がんの予後バイオマーカー」 岡山洋和 河野浩二

## 低酸素応答シグナルと放射線障害医療

### 研究組織

拠点機関研究者：谷本 圭司（広島大学原爆放射線医科学研究所：所内講師）

李 桃生（長崎大学原爆後障害医療研究所：教授）

鈴木 義行（福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授）

### 研究目的

低酸素環境下幹細胞における低酸素応答が、放射線障害および組織再生能に与える影響を分子レベルで解明し、さらに、正常幹細胞とがん幹細胞におけるその応答性の相違を明らかにすると共に、低酸素シグナル制御による放射線障害医療への応用展開をめざします。

### 研究実施内容

酸素は生命機能の維持に必須であり、細胞には酸素欠乏（低酸素）に対応するための厳密な分子機構が備わっています。酸素欠乏（低酸素）は、高山病に代表される環境中の酸素低下のみならず、多くの疾患、例えば、貧血、心臓や血管（循環器）の疾患、肺の疾患、糖尿病、がんなどで酸素供給不足による組織中の低酸素化が疾患発症や増悪と関係することも分かってきました。すなわち、低酸素応答シグナルは、組織細胞の恒常性維持に極めて重要であり、その制御が疾患治療においても非常に重要であると明らかになってきました。我々も、これまでに、正常組織幹細胞の機能、幹細胞ゲノム安定性維持、及び放射線による DNA 損傷応答における低酸素シグナルの役割解明に関する研究に取り組んできました。今回、低酸素シグナル制御による放射線障害医療への応用展開をめざし、複数回の研究打ち合わせを行いました。その結果、マウス個体におけるがん組織、特にがん幹細胞における低酸素応答機構の解明および制御法の開発、免疫放射線療法の開発に向けて、ヒトがん組織における低酸素応答シグナルと免疫システムおよび放射線応答の解明、そして、それらの分子機構の解明に取り組むこととなりました。

本年度は、低酸素環境下培養細胞における放射線感受性変化の分子動態解析モデル（谷本）、マウス個体における低酸素環境下がん組織の観察モデル（李）、ヒト組織検体を用いた解析による放射線治療効果と低酸素応答分子の発現動態解析モデル（鈴木）の構築を試みました。

低酸素環境下における分子動態を明らかにするために、マイクロアレイおよび RNA-seq による網羅的遺伝子発現解を行いました。その結果、非常に多くの遺伝子発現量が増加したり、減少したりすること、減少する遺伝子の中に、DNA 損傷応答に関わる遺伝子が多く含まれていることを見出しました。また、GEO（The NCBI Gene Expression Omnibus）に登録されている低酸素環境下におけるマイクロアレイ実験結果を集合知解析したところ、低酸素環境下における DNA 損傷応答に関わる遺伝子群の発現低下は、幅広い種類の細胞に共通の機構である可能性が示されました。さらに、いくつかの分子生物学的解析から、DEC（DEC1 または DEC2）というストレス応答、概日リズム、細胞分化などに関わる転写調節因子が直接、DNA 損傷応答遺伝子の調節領域に結合し、その遺伝子発現量を抑制している機構が明らかとなりました。siRNA により DEC 発現量を抑制すると、放射線や抗がん剤による細胞内応答が回復し、がん細胞が効果的に死ぬことが明らかとなりました。

さらに、マウス下肢に腫瘍を移植し、大腿動脈の結紮により腫瘍に低酸素（虚血）状態を誘導する実験モデルを作製しました。結紮 2 日後、腫瘍に 5 Gy の放射線照射を行い、がん細胞の DNA 障害を評価しました。その結果、低酸素状態下では腫瘍細胞の DNA 障害が有意に低値であることがわかりました。一方、*in vitro* 予備実験では、低酸素（1% pO<sub>2</sub>）が正常酸素（20% pO<sub>2</sub>）で培養したがん細胞が、放射線感受性の明らかな差異は観察されませんでした。

また、ヒトがん組織検体の解析に向けて、サンプルの採取、臨床情報の収集、免疫染色の条件検討などを行いました。

### 今後の展望

低酸素応答シグナル（HIF や DEC シグナル）を制御する分子、薬剤を用いた細胞の放射線応答制御を試みます。また、



細胞間、培養細胞とマウス個体間における、放射線応答性の相違を引き起こしている分子（シグナル）の同定を試みます。

*In vivo* マウス実験の結果を踏まえ、低酸素により誘導されるがん細胞の放射線抵抗性に関する機序の解明を目指し、低酸素応答性転写因子 HIF や DEC のシグナル解析、腫瘍免疫機構および、網羅的解析などから、放射線感受性（抵抗性）に関わる重要な分子（シグナル）を同定します。

上記放射線応答に関わる重要分子（シグナル）のヒトがん組織における発現動態を観察、評価し、実際のヒト放射線治療応答との関連性を検討します。

これらの結果をまとめ、低酸素シグナル制御による放射線障害医療、すなわち放射線治療における、感受性診断、増感療法、新たな抗がん薬の開発へ応用展開します。

## 発表論文

Nakamura H, Bono H, Hiyama K, Kawamoto T, Kato Y, Nakanishi T, Nishiyama M, Hiyama E, Hirohashi N, Sueoka E, Poellinger L, Tanimoto K. Differentiated Embryo Chondrocyte plays a crucial role in DNA damage response via transcriptional regulation under hypoxic conditions. PLOS ONE 2018, 13(2): e0192136.

Morita A, Takahashi I, Sasatani M, Aoki S, Wang B, Ariyasu S, Tanaka K, Yamaguchi T, Sawa A, Nishi Y, Teraoka T, Ujita S, Kawate Y, Yanagawa C, Tanimoto K, Enomoto A, Neno M, Kamiya K, Nagata Y, Hosoi Y, Inaba T. A chemical modulator of p53 transactivation that acts as a radioprotective agonist. Molecular Cancer Therapeutics 2018, 17(2): 432-442.

Tanimoto K. Genetics of the hypoxia-inducible factors in human cancers. Experimental Cell Research 2017, 356(2): 166-172.

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. Journal of Stem Cell Research & Therapy 2017, Oct 25:555:73-78.

Yan C, Li TS. Dual role of mitophagy in cancer drug resistance. Anticancer Res. 2018;38(2):617-621.

Yan C, Luo L, Urata Y, Goto S, Li TS. Nicaraven reduces cancer metastasis to irradiated lungs by decreasing CCL8 and macrophage recruitment. Cancer Lett. 2018, 418:204-210.

Guo CY, Yan C, Luo L, Goto S, Urata Y, Xu JJ, Wen XM, Kuang YK, Tou FF, Li TS. Enhanced expression of PKM2 associates with the biological properties of cancer stem cells from A549 human lung cancer cells. Onco Rep. 2017, 37(4):2161-2166.

Yan C, Luo L, Urata Y, Goto S, Guo CY, Li TS. Nicaraven, a potential radioprotective agent, has very limited effect on the survival of cancer cells and the growth of established tumors. Radiat Res. 2017, 187(3):339-345.

Yan C, Luo L, Guo CY, Goto S, Urata Y, Shao JH, Li TS. Doxorubicin-induced mitophagy contributes to drug resistance in cancer stem cells isolated from HCT8 human colorectal cancer cells. *Cancer Lett.* 2017, 388:34-42.

Sato H, Ebi J, Yukawa A, Nakajima M, Tamaki T, Ohtake T, Suzuki Y. Incidence of organizing pneumonia after whole breast radiotherapy for breast cancer and analysis of risk factors. J Radiat Res, 2018 [Epub ahead of print]

Sato H, Niimi A, Yasuhara T, Permata TBM, Hagiwara Y, Isono M, Nuryadi E, Sekine R, Oike T, Kakoti S, Yoshimoto Y, Held KD, Suzuki Y, Kono K, Miyagawa K, Nakano T, Shibata A. DNA double-strand break repair pathway regulates PD-L1 expression in cancer cells. Nature Communications, 8(1), 1751, 2017.

Mimura K, TEH J, Okayama H, Shiraishi K, Kua LF, Koh V, Smoot Duane T, Ashktorab H, Oike T, Suzuki Y, Fazreen Z, Asuncion B, Shabbir A, Yong Wei P, So J, Soong R, Kono Koji, PD-L1 expression is mainly regulated by IFN- $\gamma$  associated with JAK-STAT pathway in gastric cancer. Cancer Sci., 109(1), 43-53, 2018.

Tamaki T, Miyaura K, Murakami T, Kumazaki Y, Suzuki Y, Nakano T, Kato S. The Use of Trans-Applicator Intracavitary Ultrasonography in Brachytherapy for Cervical Cancer: A Novel Approach to 3-D Image-Guided Brachytherapy. Journal of Contemporary Brachytherapy. 9(2), 151-157, 2017.

佐藤浩央, 吉本由哉, 鈴木義行 腫瘍に対する放射線治療 放射線治療による抗腫瘍免疫誘導機序, 日本臨床, 75(8), 1289-1293, 2017.

吉本由哉, 佐藤浩央, 鈴木義行 放射線治療により誘導される抗腫瘍免疫と“免疫放射線療法”, 臨床放射線, 62(12), 1663-1671, 2017.

吉本由哉, 鈴木義行 「がん分子標的治療」免疫療法を含む併用療法免疫療法と放射線療法の併用療法, がん分子標的治療, 15(2), 164-168, 2017.

## 学会発表

Tanimoto K, Oda C, Shimamoto K, Hirohashi N. Effects of hypoxia signal-modulating reagents on irradiation-induced cell growth inhibition. The 2nd International Symposium of the Network-type Joint Usage/Research Center for Radio Disaster Medical Science, Nagasaki, 2018.2.4.

谷本圭司, 島本和美, 小田千代, 廣橋伸之 低線量率放射線の低酸素応答シグナルへの影響. 第60回日本放射線影響学会, 千葉, 2017.10.26.

谷本圭司 低酸素シグナルのゲノム解析. がんとハイポキシア勉強会－ゲノム医療従事者の育成プログラム開発－, 佐賀, 2017.10.23.

鈴木義行 放射線による抗腫瘍免疫の活性化と“免疫放射線療法”の可能性, 放射線障害防止中央協議会・平成29年度放射線安全管理研修会, 大阪, 2018. (特別講演)

鈴木義行 “切らずに治す”: 最新の放射線治療, 第6回がんのリハビリテーション勉強会, 福島, 2018. (特別講演)

鈴木義行 放射線による抗腫瘍免疫の活性化と“免疫放射線療法”の可能性, 放射線障害防止中央協議会・平成29年度放射線安全管理研修会, 東京, 2018. (特別講演)

鈴木義行 放射線による抗腫瘍免疫の活性化と“免疫放射線療法 (Immuno-Radiotherapy)”の可能性, 第9回日本放射線外科学会, 川越, 2018. (特別講演)

鈴木義行 放射線による抗腫瘍免疫の活性化と“免疫放射線療法 (Immuno-Radiotherapy)”の可能性, 第2回日本臨床免疫腫瘍再生細胞療法 (IOC) 研究会, 横浜, 2017. (特別講演)

## その他 (特許申請, 新聞等広報, 受賞, 特記事項等)

特記事項なし



# 被爆者腫瘍組織バンクを用いた重複癌発症リスクの包括的解析

## 研究組織

拠点機関研究者：山口 泉（長崎大学原爆後障害医療研究所：助教）

伊藤 浩（福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授）

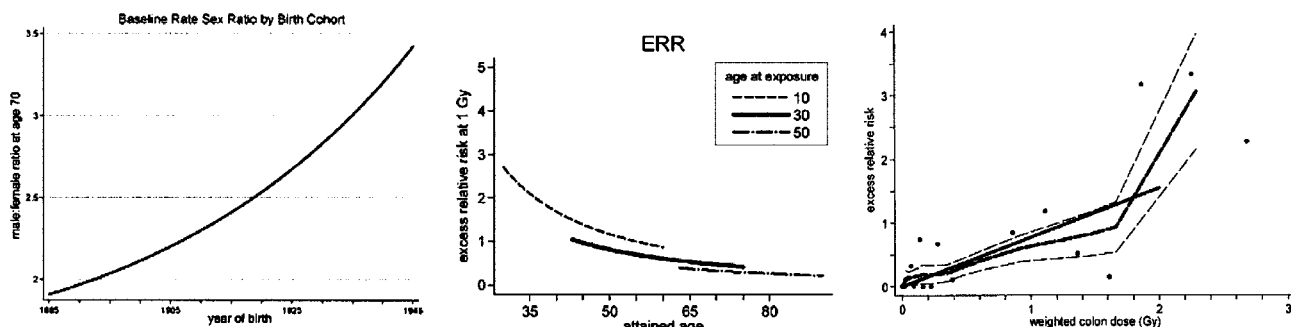
協力者：鈴木 義行（福島県立医科大学：教授）

江口 晋（長崎大学医学部：教授）

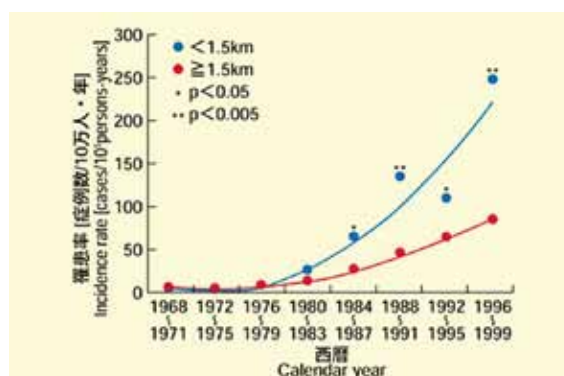
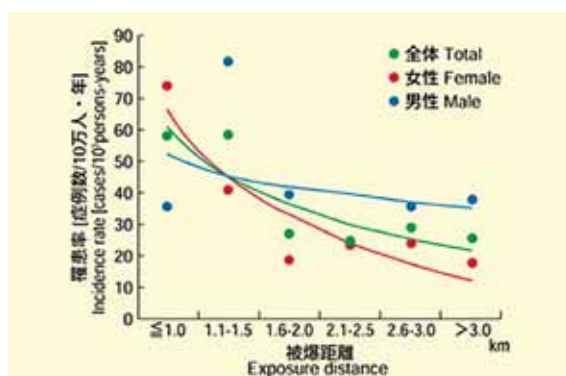
## 研究目的

発がんリスクの増加は放射線災害や医療被ばくなどの放射線被ばくの際に最も重要な後影響である。

過去の被爆者調査によると、固形癌発症のリスクは被ばく後約 10 年で現れ始め年数を経るごとに固形癌発症数は増加するが、発がんについては遺伝や加齢、環境因子など複数の要因が相互に作用するため、放射線被ばくによる過剰相対リスクは年数を経るごとに減少する。原爆放射線により被爆者に癌を生じる過剰相対リスクは、被ばく線量、被ばく時の年齢及び性に相関している（Preston DL et al. *Radiat Res* 2003）。



一方原爆被爆後の重複癌発症のリスクについて研究では、被ばく時の年齢(若年)、被ばく時の爆心地からの距離(近距離)が重複癌発症に相関することが明らかとなっている（Nakashima M et al. *Cancer Sci* 2008）。



2011 年 3 月 12 日に発生した福島第一原子力発電所爆発事故により、放射線晩発性影響のひとつである発がんリスクに対して再び関心が高まっており、その因子の解明は喫緊の課題であるにもかかわらず、重複癌罹患リスクは放射線被ばくの影響の有無が曖昧で、実際にどの程度の重要性を持つか不明である。放射線障害に関する本国での疫学研究は、原爆被爆者に対するものが主体であるが、これまでの研究においては被ばく時の状況に着目したものが多く、それら以外の因子を考慮していないのが現状である。そこで我々は重複癌を有する原爆被爆者の臨床、病理、遺伝子学的解析を通して、放射線障害と重複癌発症リスクの相関の有無と重複癌発症の予測因子に関しての研究を行うこととした。

放射線被ばくにおける固形癌の重複発症のリスク因子を解明するために、以下のことを明らかにする。

- ① 原爆被爆者において単一癌のみ発症したものと重複癌を発症したものを抽出し、臨床学的背景の相違について明らかにする。また、重複癌を発症した際の、発症臓器の傾向についても明らかにする。
- ② 原爆被爆者のうち単一癌のみの患者と重複癌を発症した患者の摘出検体より作成した病理組織を用いて多重発がんの有無による病理学的相違点を明らかにする。
- ③ 重複癌を発症した原爆被爆者の摘出標本を用いた病理組織を用いて、重複癌を発症した同一患者における異なる臓器の癌組織間での類似点を明らかにする。
- ④ 凍結標本を用いた遺伝子解析を通して放射線障害による多重癌発症の原因となる遺伝子を検索する。

## 研究実施内容

本研究では、長崎大学原爆後障害医療研究所が保有する長崎被爆者腫瘍組織バンクのデータベースの収集が開始された2008年4月から2016年12月までに取得したデータに基づいて解析を行った。このデータベースのうち固形癌の症例を抽出し、癌の重複の有無に基づいて単一癌患者群（単一群）、重複癌患者群（重複群）とした。

まず各群において臨床背景を検索し、二群間での相違を比較、解析した。臨床背景として、初回発癌時の年齢、再発時の年齢およびそれぞれの被ばく時からの経過年数、性別、基礎疾患（高血圧、糖尿病の有無）、生活歴（飲酒歴、喫煙歴）、家族歴を抽出し、解析した。また、単一群、重複群で初発癌の発生臓器を比較した。

〔表1〕 臨床背景

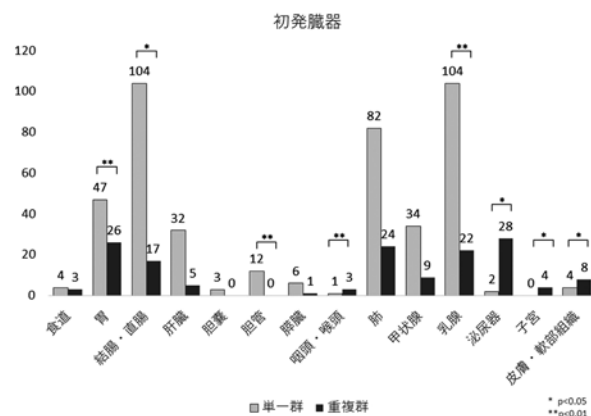
|                |    | 単一群       | 重複群       | p値    |
|----------------|----|-----------|-----------|-------|
| 症例数            |    | 435       | 150       |       |
| 性別             | 男  | 182       | 74        | ns    |
|                | 女  | 253       | 76        |       |
| 初回発癌時の年齢       |    | 75(58-92) | 69(36-85) | <0.01 |
| 被爆から初発までの期間(年) |    | 66(56-71) | 61(28-71) | <0.01 |
| 悪性腫瘍の家族歴       | あり | 190       | 77        | ns    |
|                | なし | 170       | 53        |       |
| 同一癌の家族歴あり      | あり | 47        | 21        | ns    |
|                | なし | 265       | 77        |       |
| 喫煙歴            | あり | 149       | 68        | <0.05 |
|                | なし | 265       | 77        |       |
| 飲酒歴            | あり | 185       | 73        | ns    |
|                | なし | 229       | 72        |       |
| 高血圧            | あり | 277       | 88        | ns    |
|                | なし | 149       | 60        |       |
| 糖尿病            | あり | 73        | 36        | ns    |
|                | なし | 354       | 112       |       |

## 〔結果〕

データベースに登録された症例数は654例で、うち固形癌の診断で手術を施行された症例は585例であった。内訳は単一群435例(74.3%)、重複群150例(25.7%)であった。

まず、臨床的背景の比較を示す。性別については単一群で男性182例(41.8%)、女性253例(58.2%)、重複群で男性74例(49.3%)、女性76例(50.7%)であった。初回発癌時の年齢中央値は、単一群で75歳(58-92歳)、重複群で69歳(36-85歳)、被ばくから初発までの期間中央値は、単一群で66年(56-71年)、重複群で61年(28-71年)であった。悪性腫瘍の家族歴は単一群で190例(43.7%)、同一癌の家族歴がある症例は47例(10.8%)であるのに対し、重複群では悪性腫瘍の家族歴ありが77例(51.3%)、同一癌の家族歴がある症例は21例(14%)であった。生活歴については、単一群で喫煙歴ありが149例(34.3%)、飲酒歴ありが185例(42.5%)であり、重複群では喫煙歴ありが68例(45.3%)、飲酒歴ありが73例(48.7%)であった。基礎疾患としては、高血圧ありが単一群で277例(63.7%)、重複群で88例(58.7%)、糖尿病ありが単一群で73例(16.8%)、重複群で36例(24%)であった。以上を解析すると、重複群で有意に初回発癌時の年齢が若く、被ばくから発癌までの期間が短く、喫煙歴がある症例が多いとの結果であった(表1)。

〔表2〕 癌の初発臓器



初発臓器については、単一群では結腸・直腸、乳腺がと

もに104例(23.9%)と最も多く、次いで肺82例(18.9%)、胃47例(10.8%)、甲状腺34例(7.8%)、肝臓32例(7.4%)、胆管12例(2.8%)、脾臓6例(1.4%)、食道、皮膚・軟部組織が各4例(0.9%)、胆嚢3例(0.7%)、泌尿器2例(0.5%)、咽頭・喉頭1例(0.2%)であった。一方重複癌の初発臓器は泌尿器が28例(18.7%)と最も多く、次いで胃26例(17.3%)、肺24例(16%)、乳腺22例(14.7%)、結腸・直腸17例(11.3%)、甲状腺9例(6%)、皮膚・軟部組織8例(5.3%)、肝臓5例(3.3%)、子宮4例(2.7%)、食道、咽頭・喉頭各3例(2%)、脾臓1例(0.7%)であった。これらの頻度を解析すると、単一群で結腸・直腸、胆管、乳腺が有意に多く、重複群で胃、咽頭・喉頭、泌尿器、子宮、皮膚・軟部組織が有意に多かった(表2)。

### 今後の展望

諸家の統計によれば、一般的に重複癌の発生頻度は数%とされ、必ずしも稀なものではないが、本研究における重複癌の発生頻度は25.7%と非常に高かった。発癌時の年齢、喫煙が重複癌の発症に関与することが示唆されたが、被爆者間の検討であることから、一般的な重複癌の発症リスクとも考えることができる。

一方、初発臓器については特に胃、咽頭・喉頭、泌尿器、子宮皮膚・軟部組織等の症例で重複癌が多いことから、通常が発癌リスクに加え、放射線による発癌リスクの増加が示唆されている臓器への被ばくにより、早期にこれらの臓器で発癌している可能性がある。また、手術手技や化学療法などを含めた癌治療の進歩により、初発癌を克服した症例も、加齢による癌リスク上昇により重複癌に至るため、被爆者での重複癌頻度が高くなっている可能性も示唆される。また、重複癌患者は被ばくから発癌までの期間が短く、若年で発症していることから、早期の癌や悪性度が低い癌であっても、若年で発癌したのちその癌を克服することで、他臓器に発癌する確率が非癌患者と同等となり、結果的に重複癌となる可能性は十分に考えられる。

これらをより客観的に解析するために、今後、摘出臓器の病理学的解析(形態及び免疫学的解析)及び遺伝学的解析や、被ばくのない重複癌患者との比較を行うことで、放射線による重複癌発症リスクについて更に検討を行っていく予定である。

### 発表論文

未

### 学会発表

未

### その他(特許申請, 新聞等広報, 受賞, 特記事項等)

なし

## 動物モデルを用いた甲状腺癌の研究

### 研究組織

拠点機関研究者：永山 雄二（長崎大学原爆後障害医療研究所：教授）

藤本 成明（広島大学原爆放射線医科学研究所：准教授）

松山 睦美（長崎大学原爆後障害医療研究所：助教）

### 研究目的

**研究課題①：**放射線誘発甲状腺発癌の年齢影響について調べるため、若週齢（4週齢）と高週齢（4ヵ月、7ヵ月齢）雄性 Wistar ラットに 8 Gy の X 線局所照射を行い、急性期と慢性期の発癌に至るまでの放射線感受性と甲状腺癌発症率の違いについて調べてきた。これまでに若週齢照射ラットでは非照射ラットに比べ体重増加が有意に抑制されており、甲状腺癌の発症率は週齢が若いほど高く、様々なタイプの癌が多発性に発生することが分かった。また、照射後急性期では若週齢ラットでオートファジー関連タンパクや遺伝子の増加が見られる一方、慢性期の甲状腺癌周辺組織ではオートファジー関連遺伝子の低下が見られた。これらの結果から、オートファジーが甲状腺の放射線感受性に何らかの影響を与えるのではないかと考え、オートファジーを阻害する薬剤投与後の甲状腺の放射線感受性、発癌への影響を調べる。

**研究課題②：**放射線誘発ラット甲状腺発癌モデルによる研究から、若年ラットが放射線高感受性であることが示されてきた。甲状腺発癌のプロモーション過程では、甲状腺刺激ホルモン（TSH）をはじめとする甲状腺ホルモン系が重要な役割を果たす。本研究では、若年期での放射線高感受性メカニズムを明らかにするため、新生仔期ラットを材料に、頸部放射線照射による血中ホルモンおよび下垂体-甲状腺系の甲状腺ホルモン関連遺伝子発現への影響を明らかにする。

**研究課題③：**BRAF<sup>V600E</sup> 発現遺伝子改変マウスモデルを用いて、甲状腺癌発癌研究を行っているが、Cre-loxP システムを用いた自作のコンディショナルトランスジェニックマウス Tg (LNL-BRAF<sup>V600E</sup>) を作出し、甲状腺特異的に Cre を発現するアデノウイルス（以下 Ad-TgP-Cre）を甲状腺に微量注入することによって生後に甲状腺組織の一部で BRAF<sup>V600E</sup> をさせても発癌に至らなかった。このマウスでの Cre-loxP 組換え率の低さを解消するために、LNL-BRaf<sup>V600E</sup> ノックインマウス（以下 BRaf<sup>CA</sup>）を用いて再度実験を行う。さらに Pten<sup>fl</sup> マウスとも掛け合わせて、PTEN 欠失の変異 BRAF の働きへの影響を検討する。

### 研究実施内容

**研究課題①：**放射線局所照射後発癌に至る過程で、若週齢ラットの体重減少が甲状腺ホルモンの変化に起因しているかどうかを調べるため、ラット血清の甲状腺ホルモン TSH 値と TT4 値を測定した。4週齢ラットと7ヵ月齢ラットに 8 Gy X 線照射後 6ヵ月と 12ヵ月の血清を用い、コントロールには非照射の同時期の血清を用いた。両週齢共に照射後慢性期の血清 TT4 値、TSH 値は、非照射群と照射群で差が見られなかった。一方7週齢ラット 5 Gy 全身照射後 3日、7日の急性期の血清 TSH 値は、非照射に比べ有意に上昇することが分かった。

オートファジー阻害薬であるヒドロキシクロロキン（HCQ）200mg/kg を 4週齢及び6週齢雄性ウィスターラットに照射前 3日間経口投与し、4 Gy 照射後 3時間後の甲状腺と肝臓組織を採取した。TUNEL 染色を行い、細胞死数を比較したところ、肝臓では 4週齢ラットの照射後 HCQ 投与群が非投与群に比べ有意に高い値を示し、甲状腺では 6週齢ラットで HCQ 投与群の TUNEL 陽性細胞数が非投与群に比べ高いことが分かった。HCQ 投与後照射した群は、オートファジー関連タンパク LC3-II と p62 の発現低下が認められた。

**研究課題②：[材料と方法]** 1週齢と 8週齢の雄 Wistar ラットに、頸部 X 線照射 0.6Gy、12Gy（1.0 Gy/min）を行った。1週齢照射動物は、8週齢時と 15週齢時に、8週齢照射動物は 15週齢時に安楽死して剖検した。甲状腺組織は、HE 染色による病理解析をおこなった。また、甲状腺、下垂体、肝臓組織から total RNA を抽出し、定量 RT-PCR 法による遺伝子発現測定を行った。血中ホルモン値の測定は、ELISA 及び RIA 法によった。

**[結果]** 1) 甲状腺組織：1週齢 X 線照射群では、8週齢時に甲状腺濾胞の小型化が明らかであった。この小型濾胞は 15週齢時でも継続して観察された。一方で、8週齢 X 線照射では、甲状腺組織への影響は観察されなかった。



2) 血中ホルモン：1 週齢 X 線照射群では、8 週齢時に血中総  $T_3$  ( $TT_3$ )、血中総  $T_4$  ( $TT_4$ ) が線量依存的に低下し、TSH 値は上昇していた。しかし、15 週齢時ではいずれのホルモン値にも有意な変化はなかった。8 週齢 X 線照射群においても、15 週齢時のホルモン値に影響はみられなかった。

3) 甲状腺ホルモン関連遺伝子発現：1 週齢 X 線照射群では、8 週齢時に甲状腺 GPX1 (glutathione peroxidase 1) 遺伝子発現が有意に上昇していた。この発現上昇は、15 週齢時でも継続して観察された。一方で、8 週齢 X 線照射群では、遺伝子発現への影響は観察されなかった。

[考察] 新生仔期 (1 週齢) X 線照射特異的に、甲状腺濾胞の組織変化、血中ホルモンの変動、甲状腺ホルモン関連遺伝子の発現変化が観察された。これらは、若年ラットの甲状腺組織及び甲状腺ホルモン系が、放射線に高感受性であることを示しており、その発癌プロモーションへの関与が考えられた。

研究課題③：4 週齢の  $BRAF^{CA}$  マウスの甲状腺に Ad-TgP-Cre を注入すると、6 か月では変化見られなかったが、1 年ではほぼ全例に甲状腺癌の発症が認められた。病理学的にはコロイドのない濾胞構造或いは乳頭状構造を示し、サイログロブリンと PAX8 を比較的によく発現していた。少数のマウスでは肺転移が見られた。転移巣ではサイログロブリン・PAX8 の発現は見られなかった。これに PTEN の欠失が加わると、前例で甲状腺癌が発症し、病理学的には乳頭状から未分化組織で、PAX8 の発現は低下、サイログロブリン発現はほぼ認められなかった。高頻度で肺転移が見られた。これらでもサイログロブリン・PAX8 の発現は見られなかった。多くで核内封入体・核溝などヒト乳頭癌に特徴的な所見、さらに周囲組織への浸潤像が観察された。癌組織では、Ki67 染色で検討した細胞増殖が盛んであったが、TUNEL で同定したアポトーシスの頻度も同時に高かった。また、構成的なプロモーターで Cre を発現するアデノウイルスを用いると、多臓器に炎症性変化が出現し、漏出したアデノウイルスによる全身性の変異 BRAF 発現によるものと考えられた。正常 TSH 濃度下で、生後に甲状腺の一部に変異 BRAF が発現すると癌化に至ることが証明された。以上より、 $BRAF^{CA}$  マウスと Ad-TgP-Cre を組み合わせた新規甲状腺癌モデルを作製できた。

一方で、PTEN 欠失のみでは全く変化は見られなかった。 $Pten^{+/-}$  マウスでは 6 か月過ぎから、過形成・腺腫形成が見られるのと対照であった。PETN 欠失はその発生時期の違いによって、腫瘍形成能に差が生じることが示唆された。

## 今後の展望

研究課題①：オートファジーを抑制するヒドロキシクロロキン投与により甲状腺の放射線誘発細胞死を促進することが示唆された。今後ヒドロキシクロロキン投与ラットに放射線を照射し、甲状腺発癌にどのような影響を与えるかを調べる予定である。

研究課題②：若年ラット X 線照射によって誘導された甲状腺組織変化の発癌への関与を明らかにするため、発癌関連遺伝子の発現解析を行う。また、ヨード環境が若年ラット放射線感受性にどのように影響するかを明らかにする。

研究課題③：変異 BRAF に TGF $\beta$ RII の欠失を組み合わせたマウスでの発癌と転移、EMT を検討する。同時に変異 BRAF 単独、変異 BRAF + PTEN 欠失、変異 BRAF + TGF $\beta$ RII 欠失での癌組織間の遺伝子発現の差異を比較検討したい。さらには、変異 BRAF に ATM 欠失を組み合わせ、放射線を照射し、変異 BRAF による発癌を促進する染色体異常 (融合遺伝子) を同定する。

## 発表論文

1. Doi R, Tsuchiya T, Mitsutake N, Nishimura S, Matsuyama M, Nakazawa Y, Ogi T, Akita S, Yukawa H, Baba Y, Yamasaki N, Matsumoto K, Miyazaki T, Kawahara R, Hatachi G, Sengyoku H, Watanabe H, Obata T, Niklason L, Nagayasu T: Transplantation of bioengineered rat lungs recellularized with endothelial and adipose-derived stromal cells. *Sci Rep*. 7: 8447, 2017. (査読有)
2. Matsubara K, Nakamura N, Sanoh S, Ohta S, Kitamura S, Uramaru N, Miyagawa S, Iguchi T, Fujimoto N: Altered expression of the Olr59, Ethe1, and Slc10a2 genes in the liver of F344 rats by neonatal thyroid hormone disruption, *J Appl Toxicol*. 37: 1030-1035, 2017. (査読有)
3. Kairkhanova Y, Saimova A, Uzbekov D, Chaizhunusova N, Fujimoto N: Effects of exposure to radioactive  $^{56}\text{MnO}_2$  powder on hyaluronan synthase 2 in the lung in rats, *Georgian Medical Journal*. 9: 120-124, 2017. (査読有)

4. Kairkhanova Y, Saimova A, Uzbekov D, Chaizhunusova N, Aukenov N, Shichijo K, Nakashima M, Stepanenko V, Rakhypbekov T, Hoshi M, Fujimoto N: Changes in radiation induced injury related gene expression in the lungs of rats exposed to radioactive  $^{56}\text{MnO}_2$  powder. *Radiat Risk*. 2018, in press. (査読有)
5. Nagayama Y. TSH Receptor (Thyrotropin Receptor). *Reference Module in Biomedical Sciences*. Elsevier. 10-Apr-2017 doi:10.1016/B978-0-12-801238-3.96039-2. 2017. (査読有)
6. Shimamura M, Kurashige T, Mitsutake N, Nagayama Y. Role of aldehyde dehydrogenase 1A3 for cancer stem properties of anaplastic thyroid cancer cell lines. *Endocrine*. 55: 934-943, 2017. (査読有)

#### 代表的な学会発表

1. Matsuyama M, Shichijo K, Tsuchiya T, Yoneda J, Kondo H, Matsuda K, Miura S, Sekine I, Nakashima M: Protective effects of amino acid mixture cysteine and theanine on acute radiation-induced injury in rat. The 2<sup>nd</sup> International Symposium of the Network-type Joint Usage/Research Center for Radiation Disaster Medical Science. Nagasaki, Japan. 2018 年 2 月 3 日 - 4 日
2. 松山睦美, 松山睦美, 七條和子, 近藤久義, 土屋 譽, 米田純也, 松田勝也, 三浦史郎, 関根一郎, 中島正洋: アミノ酸混合物シスチン・テアニンの放射線防護効果: 前投与による生存率と急性小腸障害への影響. 第 60 回日本放射線影響学会. 千葉. 2017 年 10 月 25 日 - 28 日
3. 松山睦美, 七條和子, 近藤久義, 土屋 譽, 米田純也, 松田勝也, 三浦史郎, 関根一郎, 中島正洋: アミノ酸混合物シスチン・テアニンの放射線防護効果: 急性小腸障害への影響. 第 106 回日本病理学会総会. 東京. 2017 年 4 月 27 日 - 29 日
4. Fujimoto N, Kairkhanova Y, Saimova A, Uzbekov D, Chaizhunusova N, Shichijo K, Nakashima M, Rakhypbekov T, Stepanenko V, Hoshi M (Hiroshima University, Semey State Medical University, Nagasaki University, Tsyb Medical Radiological Research Center, Obninsk): Internal exposure to radioactive  $^{56}\text{Mn}$  dioxide powder in rats - Effects on gene expressions. The 13th International Scientific-Practical Conference 'Ecology.Radiation.Health'. Semey Medical University, Kazakhstan. 2017 年 8 月 [招待講演]
5. Fujimoto N, Kitamura S, Uramaru N, Miyagawa S, Iguchi T (Hiroshima University, Nihon Pharmaceutical University, Okazaki Institute for Integrative Bioscience, National Institute for Basic Biology): Identification of hepatic thyroid hormone-responsive genes in neonatal rats - a search for potential target genes for thyroid hormone-disrupting chemicals. The 3rd Conference on Advances in Biochemistry and Molecular Biology. Sanya, China. 2017 年 12 月
6. 藤本成明, 北村繁幸, 浦丸直人, 宮川 信一, 井口泰泉 (広島大学原医研, 日本薬科大学薬学部, 岡崎基礎生物学研究所): 新生仔ラット肝臓における甲状腺ホルモン応答性遺伝子の同定. 第 20 回環境ホルモン学会研究発表会. 神戸大学, 神戸. 2017 年 12 月
7. Fujimoto N, Kairkhanova Y, Saimova A, Uzbekov D, Chaizhunusova N, Shichijo K, Nakashima M, Rakhypbekov T, Hoshi M (Hiroshima University, Semey State Medical University, Nagasaki University): Effects of exposure to radioactive  $^{56}\text{MnO}_2$  powder on the gene expression in the lung and the liver of rats. 21st Hiroshima International Symposium: Studies on health effects of exposure to radioactive micro-particles. Hiroshima, Japan. 2018 年 1 月
8. Fujimoto N, Kairkhanova Y, Saimova A, Uzbekov D, Chaizhunusova N, Shichijo K, Nakashima M, Rakhypbekov T, Hoshi M (Hiroshima University, Semey State Medical University, Nagasaki University): Effects of exposure to radioactive  $^{56}\text{MnO}_2$  powder on the gene expression of liver in rats. 5th Shimane-Semey International Symposium, Shimane University, Izumo, Japan. 2018 年 1 月 [招待講演]
9. Nagayama Y. Thyroid cancer in Nagasaki/Hiroshima, Chernobyl and Fukushima. The 2nd summit Italy-Japan. Rovereto, Italy. 2017 年 3 月 24 日 [招待講演]
10. Nagayama Y. Mouse Models of Sporadic Thyroid Cancer with Lung Metastasis Derived from BRAF - V600E Alone or in Combination with PTEN Loss. 87th annual meeting of American thyroid association. Victoria, Canada.



2017 年 10 月 18 日 - 22 日

その他（特許申請，新聞等広報，受賞，特記事項等）

なし

# 放射線障害に起因する移植後合併症の予防法の開発

## 研究組織

拠点機関研究者：池添 隆之（福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授）

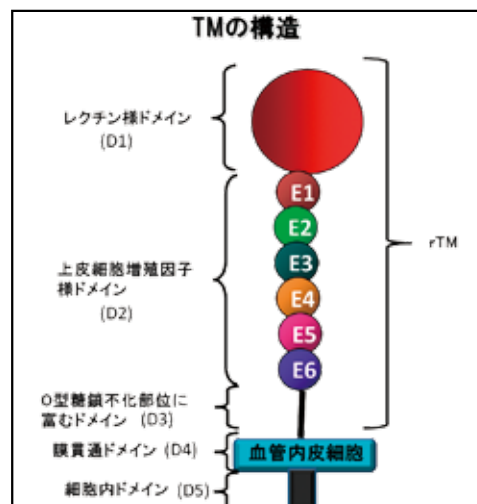
川瀬 孝和（広島大学原爆放射線医科学研究所：助教）

協力者：坂井 晃（福島県立医科大学放射線生命科学講座：教授）

## 研究目的

造血細胞移植に先立ち、全身放射線照射と抗がん剤からなる移植前処置が患者に施されるが、これが血管内皮細胞を障害することが、肝類洞閉塞症候群（sinusoidal obstruction syndrome: SOS）や血栓性微小血管症（thrombotic microangiopathy: TMA）などの致死的な移植関連合併症の重要な発症要因の一つとして認識されている。

トロンボモジュリン（thrombomodulin: TM）は主に血管内皮細胞上に発現し血液凝固を負に制御する膜蛋白である。TM の細胞外領域を遺伝子工学技術を駆使して作成した recombinant TM（rTM）が播種性血管内凝固症候群の治療薬として 2008 年から日本で臨床使用されている。我々は TM が血管内皮細胞保護作用を持つこと、そしてその作用は 40 アミノ酸からなる 5 番目の上皮細胞増殖因子様領域（TME5）に局在することを突き止めて特許申請（特願 2013-199627）を行った（Arterioscler Thromb Vasc Biol 2012, Bone Marrow Transplant 2016）。本試験で、放射線照射が血管内皮細胞の生存や機能維持に必須である AKT、MAP キナーゼなどのシグナル伝達経路や、一酸化窒素の産生に及ぼす影響を分子レベルで解明すると同時に、放射線照射による血管内皮細胞障害に対する TM の保護作用を試験管内の実験とマウス血管内皮細胞障害モデルを用いて検証し、将来の安全な移植医療の確立を目指す。



## 研究実施内容

### 方法

#### A. 放射線照射による血管内皮細胞障害に対する TM の保護作用の検討（in vitro）。

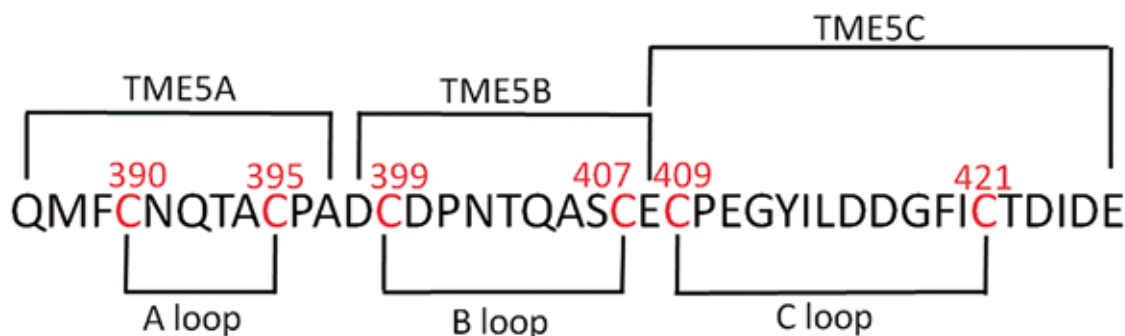
- ① ヒト正常血管内皮細胞由来の EA.hy926 細胞を使用。
- ② TM の細胞外領域を遺伝子組み換え技術を用いて作製した rTM（旭化成ファーマ）を使用。
- ③ 放射線照射後、DNA 傷害マーカーである  $\gamma$ H2AX の発現量を免疫細胞染色とウエスタンブロット法で解析する。
- ④ 細胞内シグナル伝達経路である ERK、AKT、STAT などの活性化状況を、それぞれに対するリン酸特異的抗体を用いてウエスタンブロット法で評価する。
- ⑤ 放射線照射により誘導される血管内皮細胞のアポトーシスを、アネキシン V と propidium iodide 染色後、フローサイトメトリーで陽性細胞を定量化する。
- ⑥ 放射線照射後、血管内皮細胞から RNA を抽出し、cDNA を合成後、定量化 PCR 法にて各種炎症性サイトカインや接着分子の発現量を定量化する。

#### B. 放射線照射による血管内皮細胞障害に対する TM の保護作用を in vivo で検討。

C57BL/6 マウスに放射線を照射し、48 時間後に安楽死させ大腿骨を採取する。ホルマリン固定後、薄切片を作成し HE（ヘマトキシリン・エオジン）染色を行い造血細胞の状態や血管内皮の状態を観察する。また CD31 抗体を用いて免疫組織染色を行い、血管内皮細胞を染色して 1 視野あたりの血管内皮細胞数をカウントする。

### C. 内皮細胞保護作用を発揮する TM の最小単位の同定。

TM は血液凝固を負に制御するタンパクであるため、血小板減少があり、出血傾向を伴う患者に投与する際は出血の副作用の心配が付きまとう。我々は、血液凝固系に作用せず、血管内皮細胞保護作用のみを持つ TM 変異体の作製を目指している。これまでに 40 アミノ酸からなる TM の上皮細胞増殖因子様領域の 5 番目 (TME5) に細胞保護活性があることを報告した。TM はトロンビンと結合して、プロテイン C を活性化プロテイン C (activated protein C: APC) に変換して抗凝固作用を発揮する。TME5 にはまだトロンビンとの結合能が残存していた (未発表データ)。従って、さらに TME5 からアミノ酸を削り、トロンビンとの結合能をもたず、血管内皮保護作用のみを発揮する最小単位を取得する必要がある。以下に示すように TME5 はジスルフィド架橋により A、B、C の 3 つのループ構造をもつ。それぞれのループを化学合成し、血管内皮細胞増殖刺激作用、血管新生作用、血管内皮細胞保護作用を検討する。



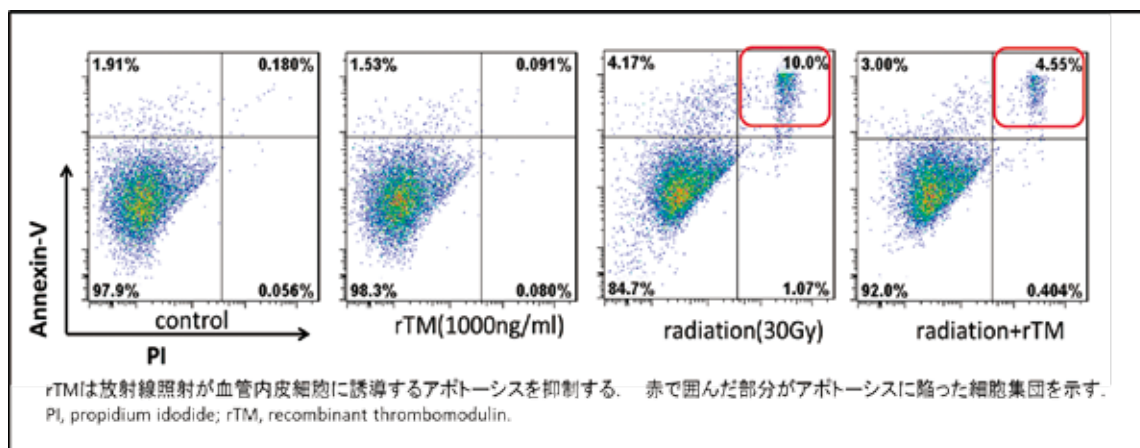
## 結果

### A. 1. TM は放射線照射による血管内皮細胞の DNA 傷害を緩和する。

EA.hy926 細胞を 20 グレイの放射線に 2 時間暴露すると DNA 傷害マーカーの  $\gamma$ H2AX の発現がこれらの細胞に誘導されることが細胞免疫染色で確認された。また、ウェスタンブロット法では、放射線に暴露後 30 分で  $\gamma$ H2AX が EA.hy926 細胞に誘導されることが確認できた。興味深いことに、放射線照射 12 時間前から rTM の存在下で EA.hy926 細胞を培養すると  $\gamma$ H2AX の発現が有意に抑制されることが明らかとなった。

### 2. TM は放射線照射による血管内皮細胞のアポトーシスを緩和する。

EA.hy926 細胞を 30 グレイの放射線に 12 時間暴露すると約 10% の細胞がアポトーシスに陥る。この培養系に rTM を放射線照射の 12 時間前に添加しておくともアポトーシスに陥る細胞の割合が半分以下に減少することが示された (下図参照)。



### 3. TM は放射線照射により血管内皮細胞に誘導される接着分子の発現を減弱する。

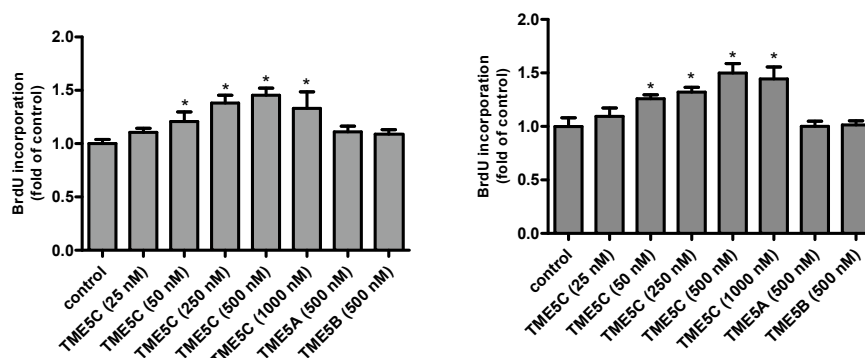
EA.hy926 細胞を 20 グレイの放射線に 12 時間暴露後、RNA を抽出して炎症性サイトカイン IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  と細胞接着分子 ICAM-1、VCAM-1、E-selectin の発現量を PCR で定量化した。何れの分子も放射線照射で発現レベルが増加

した。EA.hy926 細胞を rTM の存在下で 12 時間培養後に放射線照射を行うと、rTM で処理されなかった細胞と比較して、これらの分子の発現レベルの増加率は統計学的に有意差をもって低かった。

B. in vivo 実験に関しては、現在データを収集中。これまでに得られた予備データからは、マウスに放射線照射を行うと骨髄中の血管内皮細胞と造血細胞がともに著減するが、放射線照射後に rTM の腹腔内投与を連日継続するとこれらの細胞減少が緩和される可能性が示唆されている。

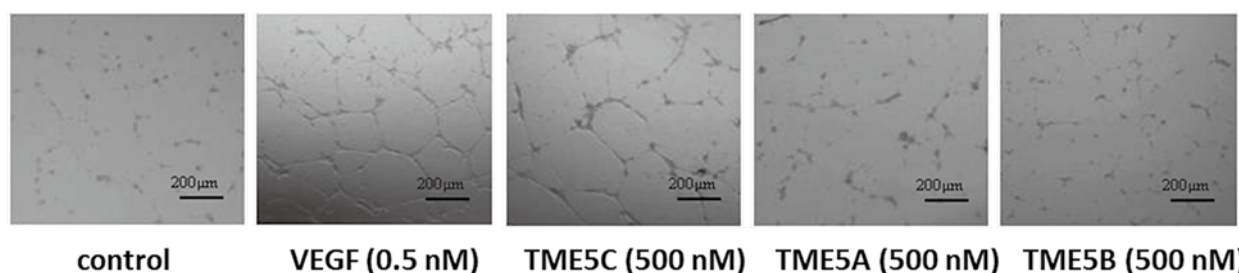
### C. 1. TM5 の C ループが血管内皮細胞増殖刺激作用を発揮する。

臍帯静脈内皮細胞（HUVEC、下図左）や肝類洞内皮細胞（HHSEC、下図右）をさまざまな濃度の化学合成した A、B、C ループの存在下で培養後、Bromodeoxyuridine（BrdU）取り込み法でその増殖活性を定量化した。その結果、下図グラフに示すように C ループだけに細胞増殖活性が認められた。

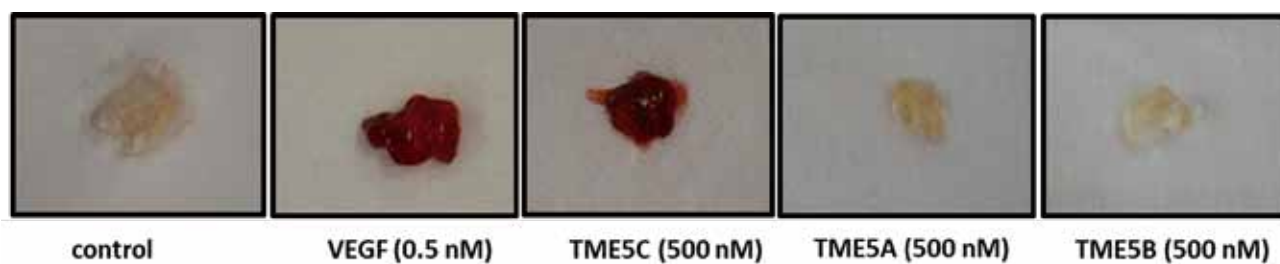


### 2. TM5 の C ループが血管新生作用を発揮する。

HUVEC を化学合成した A、B、C ループの存在下で培養後、顕微鏡下に管腔形成を観察した。C ループのみが、陽性コントロールとして使用した血管内皮細胞増殖因子（VEGF）と同様に HUVEC に管腔形成を誘導した。

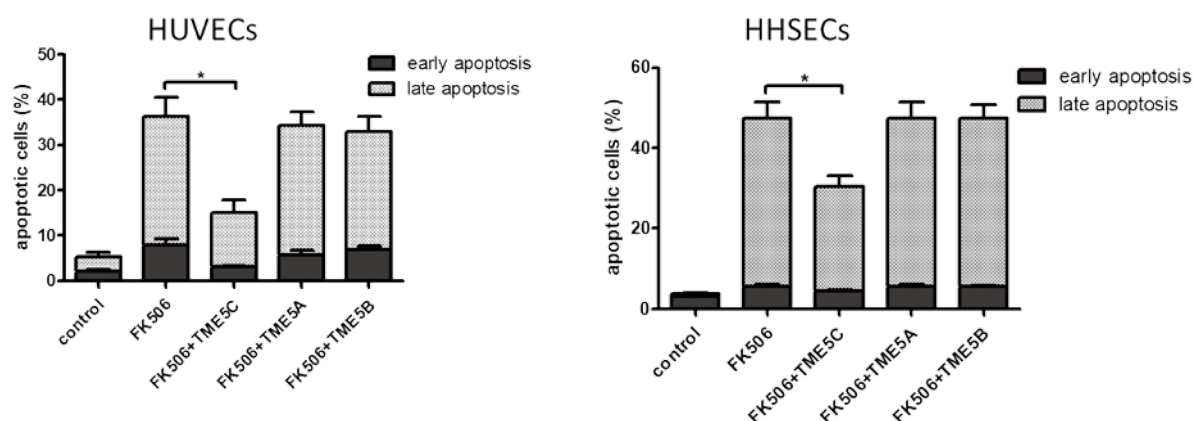


C57BL6 マウスの皮下に、各種ループを混入したマトリゲルを植え込み、72 時間後に摘出したところ、C ループに血管新生作用が存在することが確認できた。



### 3. TM5 の C ループがカルシニューリン阻害剤による細胞傷害から血管内皮細胞を保護する。

HUVEC あるいは HHSEC を細胞障害を誘導する高濃度のカルシニューリン阻害剤タクロリムス (FK506) 単独、あるいは各種ループの存在下で培養した。48 時間後に細胞を回収し、アネキシン V と propidium iodide で染色し、フローサイトメトリーで陽性細胞 (アポトーシスに陥った細胞) を定量化した。FK506 は HUVEC と HHSEC にそれぞれ 35% あるいは 55% の細胞にアポトーシスを誘導した。A と B ループにはアポトーシスを抑制する作用は認めなかったが、C ループを FK506 と共に培養液中に添加すると、アポトーシスに落ちいた細胞は統計学的に有意差をもって減少した。これらの結果から、C ループに内皮細胞保護作用が存在することが明らかとなった。



### 今後の展望

今回の研究で、放射線が血管内皮細胞にアポトーシスを誘導すること、そして rTM がそれを抑制することが明らかとなった。rTM の 5 番目の上皮細胞増殖因子様領域の C ループが、タクロリムスによる細胞障害から血管内皮細胞や類洞内皮細胞を保護することが示されたが、今後この C ループが放射線障害から内皮細胞を保護するのか、またそうであればその作用機序についても解析を進める。C ループをリードコンパウンドとして、被爆事故後の細胞保護剤の開発を目指したい。

### 発表論文

以下を投稿中

Cytoprotective and pro-angiogenic functions of thrombomodulin are preserved in the C loop of the fifth epidermal growth factor-like domain

Xiangmin Wang<sup>1,2</sup>, Bin Pan<sup>1,2</sup>, Goichi Honda<sup>3</sup>, Xintao Wang<sup>2</sup>, Yuko Hshimoto<sup>4</sup>, Hiroshi Ohkawara<sup>2</sup>, Kailin Xu<sup>1</sup>, Lingyu Zeng<sup>1</sup> and Takayuki Ikezoe<sup>2</sup>

1. Department of Hematology, The Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, No. 99, West Huaihai Road, 221002 Xuzhou, China.
2. Department of Hematology, Fukushima Medical University, Fukushima city, Fukushima 960-1295, Japan.
3. Medial Affairs Department, Asahi Kasei Pharma., Kanda Jinbocho, Chiyoda-ku, Tokyo 101-8101, Japan.
4. Department of Diagnostic Pathology, Fukushima Medical University, Fukushima city, Fukushima 960-1295, Japan.

### 学会発表

国際血栓止血学会年次総会 Dublin, 2018 年 7 月 18 日 - 21 日で発表予定

Recombinant human soluble thrombomodulin protects vascular endothelial cells from radiation-induced DNA damage

Xiangmin Wang<sup>1</sup>, Xintao Wang<sup>1</sup>, Takakazu Kawase<sup>2</sup>, Goichi Honda<sup>3</sup>, Hiroshi Ohkawara<sup>1</sup>, Takayuki Ikezoe<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Hematology, Fukushima Medical University, Fukushima City, Fukushima 960-1295, Department

of Hematology and Oncology, Research Institute for Radiation Biology and Medicine (RIRBM), Hiroshima University, Hiroshima City, Hiroshima 734-0037, Medial Affairs Department, Asahi Kasei Pharma., Kanda Jinbocho, Chiyoda-ku, Tokyo 101-8101, Japan.

その他（特許申請，新聞等広報，受賞，特記事項等）

特許申請 特願 2017-151290 新規ポリペプチド及びその用途

発明者：池添隆之，本田剛一（旭化成ファーマ）



## 緊急被ばくに対する再生医療体制の確立

### 研究組織

拠点機関研究者：東 幸仁（広島大学原爆放射線医科学研究所：教授）

竹石 恭知（福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授）

石田 隆史（福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授）

李 桃生（長崎大学原爆後障害医療研究所：教授）

### 研究目的

我が国での原発事故、過去の緊急被ばくの実態、世界での原発建設ラッシュや核テロの脅威の下、放射線による不可逆的細胞障害に対して細胞療法、細胞修復・再生バイオ技術を用いた新規治療の確立が喫緊の課題である。「高度被ばく医療支援センター」、「原子力災害医療・総合支援センター」ならびに「国際原子力機関の緊急時対応援助ネットワークにおける医療支援機関」としての「iPS細胞より作製した各種細胞移植」を主要措置とする実践的な「緊急被ばくに即時対応できる再生医療体制」の早急な構築を目的とする。

### 研究実施内容

#### 1) 緊急被ばく医療に応用可能な各細胞療法、細胞修復・再生バイオ技術を用いた治療の改良及び新たな療法の開発

難治性疾患に対する各細胞療法、細胞修復・再生バイオ技術を用いた治療を応用、統合させて、緊急被ばく医療に応用可能な細胞療法を確立する。細胞療法を確立している肝細胞、血管（研究代表者により申請、先進医療承認済）、骨、軟骨再生に加え、血球細胞の細胞移植のみならず、皮膚、消化管、神経、歯周、乳房、毛髪再生等の細胞療法を準備、実施する。

#### 2) 緊急被ばく医療に応用可能な iPS 細胞バンクを目指した、各種幹細胞よりの iPS 細胞の樹立、樹立された iPS 細胞より再生医療に必要な細胞、iPS 細胞の分化、増殖、安全性の確認

iPS細胞のバンク化を目指して、ヒト iPS細胞作製のための各種幹細胞を採取する。ヒトの各種細胞より iPS細胞の樹立、維持、分化、増殖に用いる無血清培地の開発、組織再生足場材料の開発、iPS細胞の品質管理、分化因子等のスクリーニングに基づく分化誘導法の確立、インテグレーションフリー iPS細胞樹立と効率化を行う。現在、研究代表者らは、ヒト末梢血由来、骨髄由来、脂肪組織由来の間葉系幹細胞を用いて、iPS細胞樹立に成功している。

#### 3) 細胞療法室の運営

手術室に併設する細胞療法室のハード、ソフト面での運用方針を決定し、それぞれの細胞療法を行う医師が運営方針に則って設備を使用し、重症末梢血管疾患、肝臓癌、肝炎、骨壊死、軟骨障害、口腔癌など癌・難治性疾患に至る様々な疾患細胞治療を遂行できる体制を整備する。さらに、iPS細胞を用いた「被ばく対応幹細胞バンク」の実用を目指す。

#### 4) 緊急被ばく医療を担う人材育成

細胞・再生医療に関わる高度専門人材の育成のために、細胞療法士認定システムに合致した講義、実習を取り入れた人材育成教育プログラムの作成を行い、実践することで、細胞工学士、リサーチコーディネーターを育成する。さらに、先端の再生医療、細胞療法に対する新世紀の被ばく医療を担う医師、看護師の育成教育を行う。

#### 5) 緊急被ばく医療ネットワークの構築

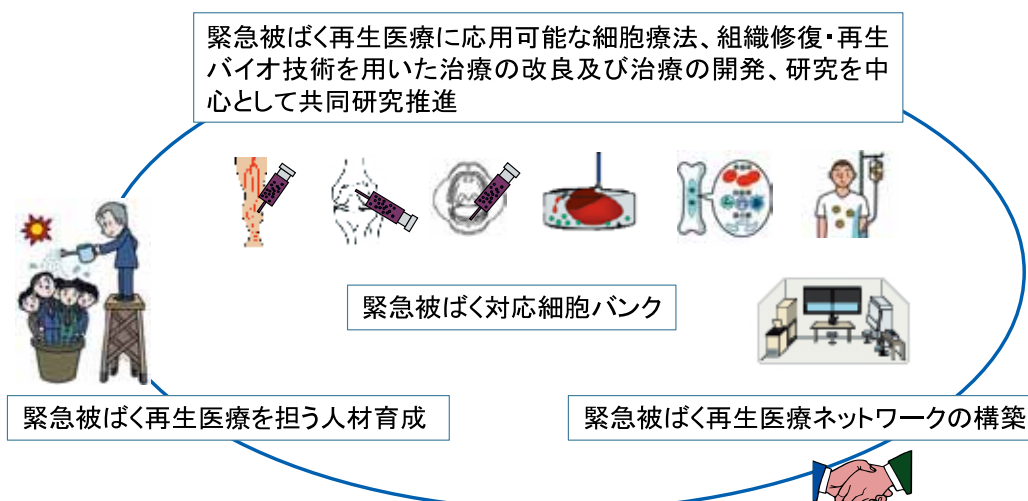
放射線影響研究所、放射線医学総合研究所などの国内緊急被ばく医療機関・研究機関とのさらなる密接なネットワーク構築を推進する。WHO-REMPAN と IAEA-RANET と国際連携を行い、北京放射線研究所、ハーバード大学、セミパラチンスク医科大学などと緊急被ばく情報の共有化や共同研究を推進する。

### 国内ならびに国外緊急被ばく再生医療・教育研究連携体制

広島大学は、我が国の緊急被ばく医療の拠点として「三次被ばく医療機関」に選定され、緊急被ばく医療体制の確立に取り組んできた。平成 22 年度には「国際原子力機関の緊急時対応援助ネットワークにおける医療支援施設」、平成 27 年

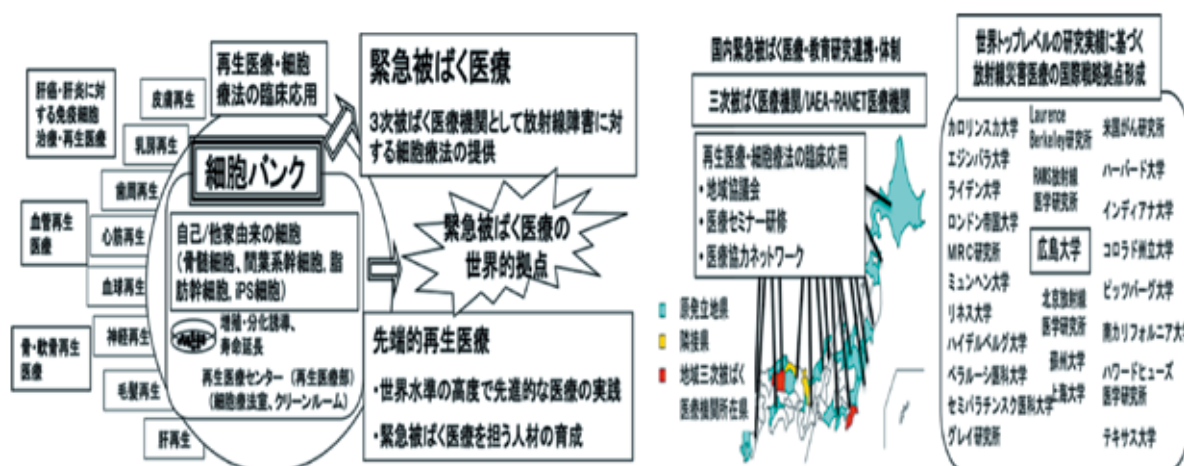
## 緊急被ばくに即時対応できる再生医療対応システム

研究代表者、研究分担者らは、これまで、重症末梢血管疾患、肝臓癌、肝炎、骨壊死、軟骨障害、口腔癌など癌・難治性疾患に至る様々な疾患に対して細胞治療、再生医療の実績を有している。また、細胞治療が行われていない全身臓器の再生医療への準備を行ってきた。再生医療に必須である細胞療法室の運営も進めてきた。さらに細胞療法室を、緊急被ばくに対応できる体制にするために、iPS細胞を中心とした細胞バンクの実用化が必要である。国内外の緊急被ばく再生医療・教育研究連携体制のもと、緊急被ばく医療を担う人材育成、緊急被ばく医療に応用可能な細胞療法、組織修復・再生バイオ技術の改良、開発を行うことによって緊急被ばくに即時対応できる再生医療システムを構築する。



## 緊急被ばく医療ネットワークの構築

放射線影響研究所、放射線医学総合研究所などの国内緊急被ばく医療機関・研究機関とのさらなる密接なネットワーク構築を推進する。WHO-REMPAN と IAEA-RANET と国際連携を行い、北京放射線研究所、ハーバード大学、セミパラチンスク医科大学などと緊急被ばく情報の共有化や共同研究を推進する。



## 今後の展望

我が国での原発事故の現実、アジア諸国、アメリカ合衆国での原発建設ラッシュと地球温暖防止策としての原発依存、核テロに対する脅威等に対する早急な緊急被ばく再生医療システム構築が必要である。平成 23 年 3 月 11 日の東日本大震災と津波災害で、東京電力第 1 原子力発電所の原子炉群が多大な被害を被り、その復旧作業に従事する作業員の被ばく安全対策が議論の対象となった。一部の国内医師グループから、原子炉事故緊急対応作業員からの自家造血幹細胞の事前採取および保存の提唱が Lancet 誌に掲載された。放射線による不可逆的細胞障害に対して細胞療法、細胞修復・再生バイオ技術を用いた新規治療の確立が必要である。広島大学は、我が国の緊急被ばく医療の拠点として「三次被ばく医療機関」として選定され、緊急被ばく医療体制の確立に取り組んできた。平成 22 年度には「国際原子力機関の緊急時対応援助ネットワークにおける医療支援施設」に選定された。さらに、平成 27 年度には、「高度被ばく医療支援センター」および「原子力災害医療・総合支援センター」に指定された。現在、「緊急被ばく対応 iPS 細胞バンク」の立ち上げのために機器・設備の導入等ハード的な整備を進めているが、まだ実際の幹細胞バンキングの受け入れ体制や不測の被ばく緊急事態に即時対応できる体制は整っていないのが現状である。「高度被ばく医療支援センター」および「原子力災害医療・総合支援センター」として、事態の重要性を強く認識し、早急に「緊急被ばく対応 iPS 細胞バンク」を立ち上げ、それを核とした「緊急被ばく再生医療対応システム」を構築することが、我が国において喫緊の課題である。細胞療法を、細胞療法室を含む治療ユニットに集中させることにより、医療に貢献できる優れた基礎研究から臨床研究へのトランスレーショナルリサーチを臨床の場へ速やかに提供でき、緊急被ばくにおける有事利用が可能となる。細胞療法、細胞修復・再生バイオ技術を用いた緊急被ばく医療の確立は、被ばく医療による放射線障害に対して迅速に対応できることが期待される。これまで、私設細胞バンクにて有料での事業化例があるものの、私設バンクの経営状況や安全性確保の観点等民間運営の問題点が多く指摘されている。同一の施設で、細胞の管理、安全性の確認、細胞療法を実施することが理想である。公的機関である事業実施主体にて充実した管理運用体制のもと、細胞バンクを管理運用することにより、安全な細胞が提供可能となる。本研究を通じて、細胞療法や細胞修復・再生及びバイオ技術を提供する細胞工学士や、リサーチコーディネーターを育成し、緊急被ばく医療の研究や臨床医療の発展に繋げる。緊急被ばく医療ネットワークの構築については、緊急被ばく医療に積極的に取り組んでいる WHO-REMPAN などとの国際連携により、緊急被ばく医療の世界的拠点として研究ならびに臨床応用を進展させることにより緊密な緊急被ばく国際医療ネットワークの構築につながることが期待される。

## 発表論文

1. Kaneshiro T, Matsumoto Y, Nodera M, Kamioka M, Suzuki H, Takeishi Y. Spastic occlusion of coronary artery during cryoballoon pulmonary vein isolation. *HeartHeartRhythm Case Rep.* 2017 Aug 31;3(11):509-512. doi: 10.1016/j.hrcr.2017.08.001. eCollection 2017 Nov. Rhythm Case Rep. 2017 Aug 31;3(11):509-512. doi: 10.1016/j.hrcr.2017.08.001. eCollection 2017 Nov. No abstract available.
2. Aimo A, Januzzi JL Jr, Vergaro G, Ripoli A, Latini R, Masson S, Magnoli M, Anand IS, Cohn JN, Tavazzi L, Tognoni G, Gravning J, Ueland T, Nymo SH, Brunner-La Rocca HP, Bayes-Genis A, Lupón J, de Boer RA, Yoshihisa A, Takeishi Y, Egstrup M, Gustafsson I, Gaggin HK, Eggers KM, Huber K, Tentzeris I, Tang WHW, Grodin J, Passino C, Emdin M. Prognostic Value of High-Sensitivity Troponin T in Chronic Heart Failure: An Individual Patient Data Meta-Analysis. *Circulation.* 2018 Jan 16;137(3):286-297. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.031560.
3. Ueda K, Ikeda K, Ikezoe T, Harada-Shirado K, Ogawa K, Hashimoto Y, Sano T, Ohkawara H, Kimura S, Shichishima-Nakamura A, Nakamura Y, Shikama Y, Mori T, Mason PJ, Bessler M, Morishita S, Komatsu N, Shide K, Shimoda K, Koide S, Aoyama K, Oshima M, Iwama A, Takeishi Y. Hmga2 collaborates with JAK2V617F in the development of myeloproliferative neoplasms. *Blood Adv.* 2017 Jun 14;1(15):1001-1015. doi: 10.1182/bloodadvances.2017004457. eCollection 2017 Jun 27.
4. Sato Y, Yoshihisa A, Kimishima Y, Kiko T, Watanabe S, Kanno Y, Abe S, Miyata M, Sato T, Suzuki S, Oikawa M, Kobayashi A, Yamaki T, Kunii H, Nakazato K, Ishida T, Takeishi Y. Subclinical Hypothyroidism Is Associated With Adverse Prognosis in Heart Failure Patients. *Can J Cardiol.* 2018 Jan;34(1):80-87. doi: 10.1016/j.cjca.2017.10.021. Epub 2017 Nov 8.

5. Yokokawa T, Sato T, Suzuki S, Oikawa M, Yoshihisa A, Kobayashi A, Yamaki T, Kunii H, Nakazato K, Suzuki H, Saitoh SI, Ishida T, Shimouchi A, Takeishi Y. Elevated exhaled acetone concentration in stage C heart failure patients with diabetes mellitus. *BMC Cardiovasc Disord*. 2017 Nov 16;17(1):280. doi: 10.1186/s12872-017-0713-0.
6. Sato T, Yoshihisa A, Kanno Y, Suzuki S, Yamaki T, Sugimoto K, Kunii H, Nakazato K, Suzuki H, Saitoh SI, Ishida T, Takeishi Y. Cardiopulmonary exercise testing as prognostic indicators: Comparisons among heart failure patients with reduced, mid-range and preserved ejection fraction. *Eur J Prev Cardiol*. 2017 Dec;24(18):1979-1987. doi: 10.1177/2047487317739079. Epub 2017 Oct 31.
7. Oikawa M, Kobayashi A, Wada K, Sato T, Suzuki S, Yoshihisa A, Nakazato K, Suzuki H, Saitoh SI, Ishida T, Takeishi Y. Novel Parameter to Predict Left Ventricular Filling Pressure: Product of Log B-Type Natriuretic Peptide and Ratio of Mitral Inflow Early and Late Diastolic Filling Velocities. *J Card Fail*. 2018 Jan;24(1):29-32. doi: 10.1016/j.cardfail.2017.10.008. Epub 2017 Oct 12.
8. Yoshihisa A, Sato Y, Yokokawa T, Sato T, Suzuki S, Oikawa M, Kobayashi A, Yamaki T, Kunii H, Nakazato K, Saitoh SI, Takeishi Y. Liver fibrosis score predicts mortality in heart failure patients with preserved ejection fraction. *ESC Heart Fail*. 2018 Apr;5(2):262-270. doi: 10.1002/ehf2.12222. Epub 2017 Oct 2.
9. Yokokawa T, Ichijo Y, Houtsuki Y, Matsumoto Y, Oikawa M, Yoshihisa A, Sugimoto K, Nakazato K, Suzuki H, Saitoh SI, Shimouchi A, Takeishi Y. Change of Exhaled Acetone Concentration in a Diabetic Patient with Acute Decompensated Heart Failure. *Int Heart J*. 2017 Oct 21;58(5):828-830. doi: 10.1536/ihj.16-556. Epub 2017 Sep 30.
10. Sato A, Suzuki S, Watanabe S, Shimizu T, Nakamura Y, Misaka T, Yokokawa T, Shishido T, Saitoh SI, Ishida T, Kubota I, Takeishi Y. DPP4 Inhibition Ameliorates Cardiac Function by Blocking the Cleavage of HMGB1 in Diabetic Mice After Myocardial Infarction. *Int Heart J*. 2017 Oct 21;58(5):778-786. doi: 10.1536/ihj.16-547. Epub 2017 Sep 30.
11. Sugimoto K, Nakazato K, Sato A, Suzuki S, Yoshihisa A, Machida T, Saitoh SI, Sekine H, Takeishi Y. Autoimmune disease mouse model exhibits pulmonary arterial hypertension. *PLoS One*. 2017 Sep 19;12(9):e0184990. doi: 10.1371/journal.pone.0184990. eCollection 2017
12. Fujiwara SA, Kobayashi T, Ikeda R, Yasuda K, Kubota I, Takeishi Y. Bilateral submandibular sialadenitis following influenza A virus infection. *IDCases*. 2017 Sep 1;10:49-50. doi: 10.1016/j.idcr.2017.08.016. eCollection 2017.
13. Kiko T, Masuda A, Nemoto A, Tominaga H, Oriuchi N, Yoshihisa A, Takeishi Y. Cardiac sarcoidosis after glucocorticoid therapy evaluated by 18F-fluorodeoxyglucose PET/MRI. *J Nucl Cardiol*. 2018 Apr;25(2):685-687. doi: 10.1007/s12350-017-1066-x. Epub 2017 Sep 14.
14. Miura S, Saitoh SI, Kokubun T, Owada T, Yamauchi H, Machii H, Takeishi Y. Mitochondrial-Targeted Antioxidant Maintains Blood Flow, Mitochondrial Function, and Redox Balance in Old Mice Following Prolonged Limb Ischemia. *Int J Mol Sci*. 2017 Sep 4;18(9). pii: E1897. doi: 10.3390/ijms18091897.
15. Yamaki T, de Haas HJ, Tahara N, Petrov A, Mohar D, Haider N, Zhou J, Tahara A, Takeishi Y, Boersma HH, Scarabelli T, Kini A, Strauss HW, Narula J. Cardioprotection by minocycline in a rabbit model of ischemia/reperfusion injury: Detection of cell death by in vivo 111In-GSAO SPECT. *J Nucl Cardiol*. 2018 Feb;25(1):94-100. doi: 10.1007/s12350-017-1031-8. Epub 2017 Aug 24.
16. Yoshihisa A, Watanabe S, Yokokawa T, Misaka T, Sato T, Suzuki S, Oikawa M, Kobayashi A, Takeishi Y. Associations between acylcarnitine to free carnitine ratio and adverse prognosis in heart failure patients with reduced or preserved ejection fraction. *ESC Heart Fail*. 2017 Aug;4(3):360-364. doi: 10.1002/ehf2.12176. Epub 2017 Jun 26.
17. Yoshihisa A, Takeishi Y. Heart failure and sleep disordered breathing. *Fukushima J Med Sci*. 2017 Aug 9;63(2):32-38. doi: 10.5387/fms.2017-13. Epub 2017 Jul 21.
18. Sugimoto K, Nakazato K, Sakamoto N, Yamaki T, Kunii H, Yoshihisa A, Suzuki H, Saitoh SI, Takeishi Y. Pulmonary Artery Diameter Predicts Lung Injury After Balloon Pulmonary Angioplasty in Patients With Chronic



- Thromboembolic Pulmonary Hypertension. *Int Heart J.* 2017 Aug 3;58(4):584-588. doi: 10.1536/ihj.16-365. Epub 2017 Jul 13.
19. Sato Y, Yoshihisa A, Kanno Y, Watanabe S, Yokokawa T, Abe S, Misaka T, Sato T, Suzuki S, Oikawa M, Kobayashi A, Yamaki T, Kunii H, Nakazato K, Saitoh SI, Takeishi Y. Liver stiffness assessed by Fibrosis-4 index predicts mortality in patients with heart failure. *Open Heart.* 2017 Apr 28;4(1):e000598. doi: 10.1136/openhrt-2017-000598. eCollection 2017.
  20. Ikeda K, Ueda K, Sano T, Ogawa K, Ikezoe T, Hashimoto Y, Morishita S, Komatsu N, Ohto H, Takeishi Y. The Amelioration of Myelofibrosis with Thrombocytopenia by a JAK1/2 Inhibitor, Ruxolitinib, in a Post-polycythemia Vera Myelofibrosis Patient with a JAK2 Exon 12 Mutation. *Intern Med.* 2017;56(13):1705-1710. doi: 10.2169/internalmedicine.56.7871. Epub 2017 Jul 1.
  21. Kaneshiro T, Matsumoto Y, Nodera M, Kamioka M, Kamiyama Y, Yoshihisa A, Ohkawara H, Suzuki H, Takeishi Y. Anatomical predisposing factors of transmural thermal injury after pulmonary vein isolation. *Europace.* 2017 Jun 12. doi: 10.1093/europace/eux185. [Epub ahead of print]
  22. Masuda A, Nemoto A, Yamaki T, Oriuchi N, Takenoshita S, Takeishi Y. Assessment of myocardial viability of a patient with old myocardial infarction by 18F-fluorodeoxyglucose PET/MRI. *J Nucl Cardiol.* 2017 Jun 5. doi: 10.1007/s12350-017-0941-9. [Epub ahead of print]
  23. Yoshihisa A, Sato Y, Watanabe S, Yokokawa T, Sato T, Suzuki S, Oikawa M, Kobayashi A, Takeishi Y. Decreased cardiac mortality with nicorandil in patients with ischemic heart failure. *BMC Cardiovasc Disord.* 2017 May 31;17(1):141. doi: 10.1186/s12872-017-0577-3.
  24. Yokokawa T, Yoshihisa A, Kanno Y, Sato T, Suzuki S, Misaka T, Oikawa M, Kobayashi A, Yamaki T, Kunii H, Nakazato K, Suzuki H, Saitoh SI, Takeishi Y. Clinical features of extremely elderly patients with heart failure. *Geriatr Gerontol Int.* 2017 Nov;17(11):2194-2199. doi: 10.1111/ggi.13060. Epub 2017 May 21.
  25. Yoshihisa A, Takiguchi M, Kanno Y, Sato A, Yokokawa T, Miura S, Abe S, Misaka T, Sato T, Suzuki S, Oikawa M, Kobayashi A, Yamaki T, Kunii H, Nakazato K, Suzuki H, Saitoh SI, Takeishi Y. Associations of Acid Suppressive Therapy With Cardiac Mortality in Heart Failure Patients. *J Am Heart Assoc.* 2017 May 16;6(5). pii: e005110. doi: 10.1161/JAHA.116.005110.
  26. Fukatsu M, Murakami T, Ohkawara H, Saito S, Ikeda K, Kadowaki S, Sasaki I, Segawa M, Soeda T, Hoshi A, Takahashi H, Shichishima-Nakamura A, Ogawa K, Sugiura Y, Ohto H, Takeishi Y, Ikezoe T, Ugawa Y. A possible role of low regulatory T cells in anti-acetylcholine receptor antibody positive myasthenia gravis after bone marrow transplantation. *BMC Neurol.* 2017 May 15;17(1):93. doi: 10.1186/s12883-017-0881-7.
  27. Nakamura S, Kawano Y, Nakajima K, Hase H, Joki N, Hatta T, Nishimura S, Moroi M, Nakagawa S, Kasai T, Kusuoka H, Takeishi Y, Momose M, Takehana K, Nanasato M, Yoda S, Nishina H, Matsumoto N, Nishimura T. Prognostic study of cardiac events in Japanese patients with chronic kidney disease using ECG-gated myocardial Perfusion imaging: Final 3-year report of the J-ACCESS 3 study. *J Nucl Cardiol.* 2017 Apr 24. doi: 10.1007/s12350-017-0880-5. [Epub ahead of print]
  28. Tanabe N, Ikeda S, Tahara N, Fukuda K, Hatano M, Ito H, Nakayama T, Anzai T, Hashimoto A, Inoue T, Kajinami K, Kihara Y, Kinoshita H, Kuwahara K, Murohara T, Okazaki O, Sakai S, Satoh T, Takeda Y, Takeishi Y, Taniguchi M, Watanabe H, Yamamoto T, Yamauchi-Takahara K, Yoshioka K, Sasayama S. Efficacy and Safety of an Orally Administered Selective Prostacyclin Receptor Agonist, Selexipag, in Japanese Patients With Pulmonary Arterial Hypertension. *Circ J.* 2017 Aug 25;81(9):1360-1367. doi: 10.1253/circj.CJ-16-1348. Epub 2017 Apr 18.
  29. Kaneshiro T, Yoshida K, Sekiguchi Y, Tada H, Kuroki K, Kuga K, Kamiyama Y, Suzuki H, Takeishi Y, Aonuma K. Crucial role of pulmonary vein firing as an initiator of typical atrial flutter: Evidence of a close relationship between atrial fibrillation and typical atrial flutter. *J Arrhythm.* 2017 Apr;33(2):86-91. doi: 10.1016/j.joa.2016.07.013. Epub 2016 Aug 18.

30. Yoshihisa A, Sato T, Kajimoto K, Sato N, Takeishi Y; Acute Decompensated Heart Failure Syndromes (ATTEND) Heterogeneous impact of body mass index on in-hospital mortality in acute heart failure syndromes: An analysis from the ATTEND Registry. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*. 2017 Mar 1;2048872617703061. doi: 10.1177/2048872617703061. [Epub ahead of print]
31. Oikawa M, Kobayashi A, Sato T, Suzuki S, Akiomi Y, Nakazato K, Suzuki H, Saitoh SI, Takeishi Y. The usefulness of combined assessment of E/E' ratio and transmitral flow pattern to interpret cardiac condition. *Fukushima J Med Sci*. 2017 Apr 28;63(1):16-21. doi: 10.5387/fms.2016-9. Epub 2017 Mar 22.
32. Nakazato K, Kobayashi A, Nodera M, Kamioka M, Suzuki H, Saitoh SI, Takeishi Y. Lotus Root Sign in the Renal Artery in Renovascular Hypertension. *Circ J*. 2017 Jul 25;81(8):1234-1235. doi: 10.1253/circj.CJ-17-0093. Epub 2017 Feb 28.
33. Suzuki H, Nodera M, Kamioka M, Kaneshiro T, Kamiyama Y, Takeishi Y. Intracardiac impedance after cardiac resynchronization therapy is a novel predictor for worsening of heart failure. *Heart Vessels*. 2017 Aug;32(8):926-931. doi: 10.1007/s00380-017-0953-z. Epub 2017 Feb 8.
34. Furukawa M, Ohkawara H, Ogawa K, Ikeda K, Ueda K, Shichishima-Nakamura A, Ito E, Imai JI, Yanagisawa Y, Honma R, Watanabe S, Waguri S, Ikezoe T, Takeishi Y. Autocrine and Paracrine Interactions between Multiple Myeloma Cells and Bone Marrow Stromal Cells by Growth Arrest-specific Gene 6 Cross-talk with Interleukin-6. *J Biol Chem*. 2017 Mar 10;292(10):4280-4292. doi: 10.1074/jbc.M116.733030. Epub 2017 Jan 31.
35. Yoshihisa A, Abe S, Sato Y, Watanabe S, Yokokawa T, Miura S, Misaka T, Sato T, Suzuki S, Oikawa M, Kobayashi A, Yamaki T, Kunii H, Saitoh SI, Takeishi Y. Plasma volume status predicts prognosis in patients with acute heart failure syndromes. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*. 2017 Jan 1;2048872617690889. doi: 10.1177/2048872617690889. [Epub ahead of print]
36. Cao M, Shikama Y, Kimura H, Noji H, Ikeda K, Ono T, Ogawa K, Takeishi Y, Kimura J. Mechanisms of Impaired Neutrophil Migration by MicroRNAs in Myelodysplastic Syndromes. *J Immunol*. 2017 Mar 1;198(5):1887-1899. doi: 10.4049/jimmunol.1600622. Epub 2017 Jan 27.
37. Suzuki S, Yoshihisa A, Kanno Y, Watanabe S, Takiguchi M, Miura S, Yokokawa T, Sato T, Oikawa M, Yamaki T, Kunii H, Nakazato K, Suzuki H, Saitoh SI, Takeishi Y. Prognostic Impact of Living in Temporary Housing in Fukushima After the Great East Japan Earthquake. *J Card Fail*. 2017 Jan;23(1):90-92. doi: 10.1016/j.cardfail.2016.10.003. Epub 2016 Oct 18.
38. Takeishi Y, Masuda A, Kubo H, Tominaga H, Oriuchi N, Takenoshita S. Cardiac imaging with 18F-fluorodeoxyglucose PET/MRI in hypertrophic cardiomyopathy. *J Nucl Cardiol*. 2017 Oct;24(5):1827-1828. doi: 10.1007/s12350-016-0686-x. Epub 2016 Oct 14.
39. Owada T, Yamauchi H, Saitoh SI, Miura S, Machii H, Takeishi Y. Resolution of mitochondrial oxidant stress improves aged-cardiovascular performance. *Coron Artery Dis*. 2017 Jan;28(1):33-43.
40. Masuda A, Yamaki T, Kunii H, Nemoto A, Kubo H, Tominaga H, Oriuchi N, Takenoshita S, Takeishi Y. Inflammatory involvement in a patient with Leriche syndrome evaluated by 18F-fluorodeoxyglucose PET/MRI. *J Nucl Cardiol*. 2017 Oct;24(5):1819-1821. doi: 10.1007/s12350-016-0680-3. Epub 2016 Sep 20.
41. Yoshihisa A, Suzuki S, Sato Y, Kanno Y, Abe S, Miyata M, Sato T, Oikawa M, Kobayashi A, Yamaki T, Kunii H, Nakazato K, Ishida T, Takeishi Y. Relation of Testosterone Levels to Mortality in Men With Heart Failure. *Am J Cardiol*. 2018 Mar 1. pii: S0002-9149(18)30247-9. doi: 10.1016/j.amjcard.2018.01.052. [Epub ahead of print]
42. Nagai T, Yoshikawa T, Saito Y, Takeishi Y, Yamamoto K, Ogawa H, Anzai T; JASPER Investigators. Clinical Characteristics, Management, and Outcomes of Japanese Patients Hospitalized for Heart Failure With Preserved Ejection Fraction - A Report From the Japanese Heart Failure Syndrome With Preserved Ejection Fraction (JASPER) Registry. *Circ J*. 2018 Mar 23. doi: 10.1253/circj.CJ-18-0073. [Epub ahead of print]
43. Yoshihisa A, Kimishima Y, Kiko T, Sato Y, Watanabe S, Kanno Y, Abe S, Miyata M, Sato T, Suzuki S, Oikawa M,



- Kobayashi A, Yamaki T, Kunii H, Nakazato K, Ishida T, Takeishi Y. Usefulness of Urinary N-Terminal Fragment of Titin to Predict Mortality in Dilated Cardiomyopathy. *Am J Cardiol.* 2018 Feb 12. pii: S0002-9149(18)30192-9. doi: 10.1016/j.amjcard.2018.01.046. [Epub ahead of print]
44. Matsuo S, Nakajima K, Takeishi Y, Nishimura T. Prognostic value of normal stress myocardial perfusion imaging and ventricular function in Japanese patients with chronic kidney disease: a study based on the J-ACCESS-3 database. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2018 Mar 3. doi: 10.1007/s00259-018-3956-9. [Epub ahead of print]
  45. Yoshihisa A, Abe S, Kiko T, Kimishima Y, Sato Y, Watanabe S, Kanno Y, Miyata-Tatsumi M, Misaka T, Sato T, Suzuki S, Oikawa M, Kobayashi A, Yamaki T, Kunii H, Nakazato K, Ishida T, Takeishi Y. Association of Serum Zinc Level With Prognosis in Patients With Heart Failure. *J Card Fail.* 2018 Mar 2. pii: S1071-9164(18)30094-0. doi: 10.1016/j.cardfail.2018.02.011. [Epub ahead of print]
  46. Masuda A, Nemoto A, Takeishi Y. Technical aspects of cardiac PET/MRI. *J Nucl Cardiol.* 2018 Feb 21. doi: 10.1007/s12350-018-1237-4. [Epub ahead of print]
  47. Suzuki S, Yoshihisa A, Sato Y, Watanabe S, Yokokawa T, Sato T, Oikawa M, Kobayashi A, Yamaki T, Kunii H, Nakazato K, Suzuki H, Saitoh SI, Ishida T, Takeishi Y. Association between sleep-disordered breathing and arterial stiffness in heart failure patients with reduced or preserved ejection fraction. *ESC Heart Fail.* 2018 Feb 20. doi: 10.1002/ehf2.12273. [Epub ahead of print]
  48. Yoshihisa A, Suzuki S, Takeishi Y. VEGF165b elevation in pulmonary arterial hypertension patients, causative or adaptive? -Reply. *Int J Cardiol.* 2018 Apr 1;256:32. doi: 10.1016/j.ijcard.2017.11.042.
  49. Kamioka M, Hijioka N, Matsumoto Y, Nodera M, Kaneshiro T, Suzuki H, Takeishi Y. Uncontrolled blood pressure affects atrial remodeling and adverse clinical outcome in paroxysmal atrial fibrillation. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2018 Feb 15. doi: 10.1111/pace.13311. [Epub ahead of print]
  50. Yoshihisa A, Kimishima Y, Kiko T, Sato Y, Watanabe S, Kanno Y, Abe S, Miyata-Tatsumi M, Sato T, Suzuki S, Oikawa M, Kobayashi A, Yamaki T, Sugimoto K, Kunii H, Nakazato K, Suzuki H, Ishida T, Takeishi Y. Liver fibrosis marker, 7S domain of collagen type IV, in patients with pre-capillary pulmonary hypertension. *Int J Cardiol.* 2018 May 1;258:269-274. doi: 10.1016/j.ijcard.2018.01.138. Epub 2018 Feb 8.
  51. Yoshihisa A, Sato Y, Sato T, Suzuki S, Oikawa M, Takeishi Y. Better clinical outcome with direct oral anticoagulants in hospitalized heart failure patients with atrial fibrillation. *BMC Cardiovasc Disord.* 2018 Jan 25;18(1):11. doi: 10.1186/s12872-018-0746-z.
  52. Yoshihisa A, Kanno Y, Watanabe S, Yokokawa T, Abe S, Miyata M, Sato T, Suzuki S, Oikawa M, Kobayashi A, Yamaki T, Kunii H, Nakazato K, Suzuki H, Ishida T, Takeishi Y. Impact of nutritional indices on mortality in patients with heart failure. *Open Heart.* 2018 Jan 9;5(1):e000730. doi: 10.1136/openhrt-2017-000730. eCollection 2018.
  53. Kokubun T, Oikawa M, Ichijo Y, Matsumoto Y, Yokokawa T, Nakazato K, Sato Y, Takase S, Shinjo H, Yokoyama H, Suzuki H, Saitoh SI, Takeishi Y. Tricuspid and Mitral Valve Regurgitation with Bi-fascicular Block Following a Horse Kick. *Intern Med.* 2018 Jan 11. doi: 10.2169/internalmedicine.9762-17. [Epub ahead of print]
  54. Sakai C, Ishida M, Ohba H, Yamashita H, Uchida H, Yoshizumi M, Ishida T. Fish oil omega-3 polyunsaturated fatty acids attenuate oxidative stress-induced DNA damage in vascular endothelial cells. *PLoS One.* 2017 Nov 9;12(11):e0187934. doi: 10.1371/journal.pone.0187934. eCollection 2017.
  55. Luo L, Li TS, Tang J, Cheng K. Response by Luo et al to Letter Regarding Article, "Fabrication of Synthetic Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Acute Myocardial Infarction in Mice" . *Circ Res.* 2017 May 26;120(11):e48-e49. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.311151.
  56. Fuchi N, Miura K, Doi H, Li TS, Masuzaki H. Feasibility of placenta-derived mesenchymal stem cells as a tool for studying pregnancy-related disorders. *Sci Rep.* 2017 Apr 12;7:46220. doi: 10.1038/srep46220.
  57. Luo L, Tang J, Nishi K, Yan C, Dinh PU, Cores J, Kudo T, Zhang J, Li TS, Cheng K. Fabrication of Synthetic Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Acute Myocardial Infarction in Mice. *Circ Res.* 2017 May

- 26;120(11):1768-1775. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.310374. Epub 2017 Mar 15.
58. Guo CY, Yan C, Luo L, Goto S, Urata Y, Xu JJ, Wen XM, Kuang YK, Tou FF, Li TS. Enhanced expression of PKM2 associates with the biological properties of cancer stem cells from A549 human lung cancer cells. *Oncol Rep.* 2017 Apr;37(4):2161-2166. doi: 10.3892/or.2017.5438. Epub 2017 Feb 10.
  59. Yan C, Luo L, Urata Y, Goto S, Guo CY, Li TS. Nicaraven, a Potential Radioprotective Agent, has Very Limited Effects on the Survival of Cancer Cells and the Growth of Established Tumors. *Radiat Res.* 2017 Feb 22. doi: 10.1667/RR14614.1. [Epub ahead of print]
  60. Luo L, Yan C, Urata Y, Hasan AS, Goto S, Guo CY, Zhang S, Li TS. Dose-dependency and reversibility of radiation-induced injury in cardiac explant-derived cells of mice. *Sci Rep.* 2017 Jan 18;7:40959. doi: 10.1038/srep40959.
  61. Tang J, Shen D, Caranasos TG, Wang Z, Vandergriff AC, Allen TA, Hensley MT, Dinh PU, Cores J, Li TS, Zhang J, Kan Q, Cheng K. Therapeutic microparticles functionalized with biomimetic cardiac stem cell membranes and secretome. *Nat Commun.* 2017 Jan 3;8:13724. doi: 10.1038/ncomms13724.
  62. Luo L, Nishi K, Urata Y, Yan C, Hasan AS, Goto S, Kudo T, Li ZL, Li TS. Ionizing Radiation Impairs Endogenous Regeneration of Infarcted Heart: An In Vivo 18F-FDG PET/CT and 99mTc-Tetrofosmin SPECT/CT Study in Mice. *Radiat Res.* 2017 Jan;187(1):89-97. doi: 10.1667/RR14543.1. Epub 2016 Dec 6.
  63. Yan C, Luo L, Guo CY, Goto S, Urata Y, Shao JH, Li TS. Doxorubicin-induced mitophagy contributes to drug resistance in cancer stem cells from HCT8 human colorectal cancer cells. *Cancer Lett.* 2017 Mar 1;388:34-42. doi: 10.1016/j.canlet.2016.11.018. Epub 2016 Nov 30.
  64. Tang JN, Cores J, Huang K, Cui XL, Luo L, Zhang JY, Li TS, Qian L, Cheng K. Concise Review: Is Cardiac Cell Therapy Dead? Embarrassing Trial Outcomes and New Directions for the Future. *Stem Cells Transl Med.* 2018 Apr;7(4):354-359. doi: 10.1002/sctm.17-0196. Epub 2018 Feb 22.
  65. Yano R, Inadomi C, Luo L, Goto S, Hara T, Li TS. The effect of transient oxygenation on stem cell mobilization and ischemia/reperfusion heart injury. *PLoS One.* 2018 Feb 13;13(2):e0192733. doi: 10.1371/journal.pone.0192733. eCollection 2018.
  66. Yan C, Li TS. Dual Role of Mitophagy in Cancer Drug Resistance. *Anticancer Res.* 2018 Feb;38(2):617-621.
  67. Yan C, Luo L, Urata Y, Goto S, Li TS. Nicaraven reduces cancer metastasis to irradiated lungs by decreasing CCL8 and macrophage recruitment. *Cancer Lett.* 2018 Apr 1;418:204-210. doi: 10.1016/j.canlet.2018.01.037. Epub 2018 Jan 13.

## 代表的な学会発表

### 国際学会

#### 一般演題

Shogo Matsui, Yukihito Higashi, Masato Kajikawa, Tatsuya Maruhashi, Nozomu Oda, Shinji Kishimoto, Takayuki Hidaka, Farina Mohamad Yusoff, Ayumu Nakashima, Kensuke Noma, Yasuki Kihara.

Optimal Cut-off Level of Low-Density Lipoprotein Cholesterol for Normal Vascular Function in a General Population  
European Society of Cardiology Congress 2017, August 28, 2017. Barcelona.

Tatsuya Maruhashi, Yukihito Higashi, Yumiko Iwamoto, Masato Kajikawa, Shinji Kishimoto, Shogo Matsui, Haruki Hashimoto, Farina Mohamad Yusoff, Takayuki Hidaka, Ayumu Nakashima, Kensuke Noma, Yasuki Kihara, FMD-J Investigators.

Impaired Endothelial Function in Patients with Hypertension Receiving Antihypertensive Drug Treatment Regardless of Achieved Blood Pressure Level: FMD-J Study

90<sup>th</sup> Scientific Sessions, American Heart Association, November 12, 2017. Anaheim.

Masato Kajikawa, Tatsuya Maruhashi, Takayuki Hidaka, Yukiko Nakano, Satoshi Kurisu, Takeshi Matsumoto, Yumiko Iwamoto, Shinji Kishimoto, Shogo Matsui, Haruki Hashimoto, Farina Binti Mohamad Yusoff, Yasuki Kihara, Kensuke Noma, Ayumu Nakashima, Takuya Watanabe, Hiroshi Tone, Masanobu Hibi, Noriko Osaki, Yoshihisa Katsuragi, Yukihiro Higashi.

Effect of Coffee with a High Content of Chlorogenic Acids and Low Content of Hydroxyhydroquinone on Postprandial Endothelial Dysfunction

90<sup>th</sup> Scientific Sessions, American Heart Association, November 12, 2017. Anaheim, California.

Masato Kajikawa, Yukihiro Higashi, Tatsuya Maruhashi, Shinji Kishimoto, Shogo Matsui, Haruki Hashimoto, Farina Mohamad Yusoff, Takayuki Hidaka, Kensuke Noma, Ayumu Nakashima, Takanori Matsui, Sho-ichi Yamagishi, Yasuki Kihara.

Vascular function is impaired in subjects with decreased circulating level of pigment epithelium-derived factor

90<sup>th</sup> Scientific Sessions, American Heart Association, November 12, 2017. Anaheim, California.

Masato Kajikawa, Haruka Morimoto, Nozomu Oda, Naomi Idei, Harutoyo Hirano, Tatsuya Maruhashi, Shinji Kishimoto, Shogo Matsui, Haruki Hashimoto, Takayuki Hidaka, Farina Mohamad Yusoff, Yasuki Kihara, Kensuke Noma, Ayumu Nakashima, Teiji Ukawa, Toshio Tsuji, Yukihiro Higashi.

Endothelial function measured by enclosed zone flow-mediated vasodilation predicts cardiovascular events

90<sup>th</sup> Scientific Sessions, American Heart Association, November 12, 2017. Anaheim, California.

Masato Kajikawa, Satoshi Kurisu, Tatsuya Maruhashi, Takayuki Hidaka, Yumiko Iwamoto, Shinji Kishimoto, Shogo Matsui, Haruki Hashimoto, Farina Mohamad Yusoff, Yasuki Kihara, Kensuke Noma, Ayumu Nakashima, Matsushita Akiko, Hirofumi Tomiyama, Shinichiro Ueda, Yukihiro Higashi.

Short Term Colchicine Treatment Improves Endothelial Function in Patients with Cardiovascular Disease

90<sup>th</sup> Scientific Sessions, American Heart Association, November 14, 2017. Anaheim, California.

Ken Yoshida, Ayumu Nakashima, Shigehiro Doi, Toshinori Ueno, Yukio Kato, Yukihiro Higashi, Takao Masaki.

Mesenchymal stem cells cultured in serum-free medium ameliorate experimental renal fibrosis by their strong immunosuppressive effects.

Kidney weeks 2017 American Society of Nephrology, November 2, 2017, New Orleans.

## 国内学会

### シンポジウム／教育講演

東 幸仁

Endothelial function and therapeutic angiogenesis in patients with critical limb ischemia

第 81 回日本循環器学会総会 金沢 2017 年 3 月 17 日

東 幸仁

会長講演：血管内皮機能測定から見えるもの～その黎明期から現在、そして将来まで～

第 2 回日本血管不全学会 東京 2017 年 4 月 16 日

東 幸仁

血管機能とイベント：血圧の再考を

第 2 回日本血管不全学会 東京 2017 年 4 月 16 日

東 幸仁

カナグロフジンへの期待

第2回日本血管不全学会 東京 2017年4月16日

丸橋 達也, 野間 玄督, 木原 康樹, 東 幸仁

FMDの臨床への実践的応用～補助的検査からの脱去～

第2回日本血管不全学会 東京 2017年4月16日

梶川 正人, 東 幸仁

血管内皮機能測定の新ステップ: ezFMD

第2回日本血管不全学会 東京 2017年4月16日

東 幸仁

血管機能測定の現状と未来

第17回日本NO学会総会 徳島 2017年5月20日

東 幸仁

FMDが血管老化に有用な理由

第17回日本抗加齢医学会総会 東京 2017年6月2日

東 幸仁

外来診療に役立つ! 血管機能検査の基礎知識: FMD

第49回日本動脈硬化学会総会・学術集会 広島 2017年7月6日

野間 玄督, 梶川 正人, 木原 康樹, 東 幸仁

脳心血管障害の予測因子としての ROCK 活性

第49回日本動脈硬化学会総会・学術集会 広島 2017年7月6日

東 幸仁

動脈硬化評価のための血管機能総合診断システム: Vascular function (overview)

第49回日本動脈硬化学会総会・学術集会 広島 2017年7月7日

丸橋 達也, 木原 康樹, 東 幸仁

動脈硬化評価のための血管機能総合診断システム: Endothelial function (FMD/RH-PAT/ezFMD)

第49回日本動脈硬化学会総会・学術集会 広島 2017年7月7日

東 幸仁

糖尿病における血管内皮障害と LUTS/ED

第28回日本性機能学会 東京 2017年9月22日

東 幸仁

LUTS/BPHと動脈硬化: 血管機能の役割

第24回日本泌尿器科学会 東京 2017年9月29日

東 幸仁

血管機能検査を臨床に活かす

第 58 回日本脈管学会総会・学術集会 名古屋 2017 年 10 月 21 日

東 幸仁

血管内皮機能測定：過去，現在，そして将来

第 54 回日本臨床生理学会総会 宇都宮 2017 年 11 月 4 日

東 幸仁

LUTS と動脈硬化：PDE5 阻害薬と血管内皮機能

第 69 回西日本泌尿器科学総会 大分 2017 年 11 月 10 日

野間 玄督，梶川 正人，木原 康樹，東 幸仁

抗加齢医学における血管機能／ROCK 活性としての意義

脳心血管抗加齢研究会 2017 大阪 2017 年 12 月 16 日

Late breaking

Hirofumi Tomiyama, Yukihiro Higashi, Bonpei Takase, Akira Yamashina.

Endothelial function and the progression of preclinical vascular damages under antihypertensive medication: The results of FMD-J multi-center prospective study.

第 81 回日本循環器学会総会 金沢 2017 年 3 月 18 日

ランチョンセミナー／モーニングセミナー／ファイアサイドセミナー

東 幸仁

LUTS と血管内皮機能

第 26 回日本性機能学会西部総会 広島 2017 年 1 月 14 日

東 幸仁

尿酸と血管内皮機能：尿酸をもう一度考える

第 80 回日本循環器学会総会 金沢 2017 年 3 月 19 日

東 幸仁

糖尿病と血管内皮機能：循環器内科医が糖尿病治療を診る

第 6 回臨床高血圧フォーラム 岡山 2017 年 5 月 14 日

東 幸仁

糖尿病と血管内皮機能：循環器内科医が糖尿病治療を診る

第 17 回日本 NO 学会総会 徳島 2017 年 5 月 20 日

東 幸仁

下部尿路症状（LUTS）と動脈硬化：PDE5/cGMP/NO pathway の役割

第 82 回日本泌尿器科学東部総会 東京 2017 年 9 月 17 日

## 一般演題

Tatsuya Maruhashi, Yukihiro Higashi, Nozomu Oda, Akimichi Iwamoto, Masato Kajikawa, Takeshi Matsumoto, Yumiko Iwamoto, Ayumu Nakashima, Takayuki Hidaka, Kensuke Noma, Yasuki Kihara.

Nitroglycerine-induced Vasodilation in the Brachial Artery and Cardiovascular Risk Factors.

第 78 回日本循環器学会総会 東京 2014 年 3 月 21 日

丸橋 達也, 松井 翔吾, 岸本 真治, 小田 望, 梶川 正人, 岩本 由美子, 日高 貴之, 中島 歩, 野間 玄督, 木原 康樹, 東 幸仁

上腕動脈と冠動脈のニトログリセリン誘発性血管拡張反応の関係

第 2 回日本血管不全学会学術集会・総会 東京 2017 年 4 月 16 日

梶川 正人, 丸橋 達也, 松井 翔吾, 小田 望, 岸本 真治, 野間 玄督, 木原 康樹, 富山 博史, 高瀬 凡平, 山科 章, 東 幸仁

高血圧症における血管内皮機能障害：FMD-Japan Study

第 2 回日本血管不全学会学術集会 東京 2017 年 4 月 16 日

岸本 真治, 丸橋 達也, 梶川 正人, 小田 望, 松井 翔吾, 野間 玄督, 木原 康樹, 東 幸仁

特発性アルドステロン症における血管内皮機能と Rho-associated kinase 活性について

第 2 回日本血管不全学会学術集会 東京 2017 年 4 月 16 日

松井 翔吾, 梶川 正人, 丸橋 達也, 岩本 明倫, 小田 望, 岸本 真治, 日高 貴之, 中島 歩, 野間 玄督, 木原 康樹, 東 幸仁

歯磨きの時間と頻度に基づく口腔衛生が血管内皮機能に及ぼす影響

第 2 回日本血管不全学会学術集会 東京 2016 年 4 月 16 日

田中 敬士, 平野 陽豊, 曾 智, 栗田 雄一, 鶴川 貞二, 中村 隆治, 佐伯 昇, 河本 昌志, 東 幸仁, 吉栖 正生, 辻 敏夫

血管粘弾性変化率によりオシロメトリック式血管内皮機能評価法 ezFMD の識別能力は向上するか？

第 2 回日本血管不全学会学術集会 東京 2017 年 4 月 16 日

梶川 正人, 森本 陽香, 松井 翔吾, 小田 望, 平野 陽豊, 丸橋 達也, 岸本 真治, 岩本 由美子, 日高 貴之, 中島 歩, 野間 玄督, 木原 康樹, 鶴川 貞二, 辻 敏夫, 東 幸仁

新規血管内皮機能測定装置改良型 enclosed zone flow-mediated vasodilation (ezFMD) の有用性

第 40 回日本高血圧学会総会 松山 2017 年 10 月 20 日

梶川 正人, 丸橋 達也, 岸本 真治, 岩本 由美子, 松井 翔吾, 野間 玄督, 日高 貴之, 栗栖 智, 中野 由紀子, 木原 康樹, 渡辺 卓也, 刀襦 寛, 日比 壮信, 大崎 紀子, 桂木 能久, 東 幸仁

酸化成分低減クロロゲン酸含有コーヒーは食後の血管内皮機能障害を抑制する

第 40 回日本高血圧学会総会 松山 2017 年 10 月 20 日

その他（特許申請，新聞等広報，受賞，特記事項等）

報道

東 幸仁

「考えよう！！生活習慣病とおしっこのこと」



毎日新聞社 市民公開講座 2017 年 2 月 11 日 東京

東 幸仁

ドクタープラス

TBS サタデープラス 2017 年 4 月 22 日放送

# 急性放射線障害に対するヒト胎盤系間葉細胞治療に関する基礎研究

## 研究組織

拠点機関研究者：山下 俊一（長崎大学原爆後障害医療研究所：教授）

稲野 彰洋（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）

協力者：添田 義行（福島県立医科大学：助教）

## 研究目的

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する。

## 研究実施内容

今回の研究で使用するヒト胎盤系間葉細胞はイスラエルの Pluristem 社が供給する胎盤由来間葉系間質細胞 (PLX-R18) であり、造血細胞の増殖、分化、遊走に関与するサイトカインを分泌することが確認されている。米国国立衛生研究所 (NIH) でも有効性及安全性が検討されており、予備実験では、造血機能、体重回復、生存率の上昇という結果 (図 1) が得られているが、急性放射線腸管障害の全てを緩和、救済できるか否かについては、動物実験 (マウス) モデルでの十分な検証が出来ていない。

今回、我々が用いている装置の模式図は図 2 の通りである。実験は C57BL/6、雄性、8 週齢を使用し、照射後 1 日目と 5 日目に PLX-R18 細胞 ( $2.0 \times 10^7$  cells/mL) を 0.1 ml 筋肉内注射した。生存率、体重、下痢、空腸組織について観察を行った。

TBI (全身照射) での実験では、生存率と体重 (図 3) および空腸組織像 (図 4) について、明確な PLX-R18 の効果は認められなかった。そこで PBI (部分照射) 実験を行うこととした。鉛遮蔽の条件を確認し、5 % ブロック (PBI5、図 5) と 40 % ブロック (PBI40、図 6) での検討を進めた。確認比較実験では、鉛遮蔽の効果差は生存率で確認できることが確認された (図 7) が、空腸組織の障害は、PBI5 と PBI40 での違いは認められなかった (図 8)。

PBI5 では、PLX-R18 により僅かに生存率に効果が確認できたが、空腸細胞への効果は確認できなかった (図 9、図 10)。現在、PBI40 の解析を進めており、PLX-R18 の生存率への効果は、PBI5 と比較して、より強く観察されている (data not shown)。

図 1 PLX-R18 細胞研究のこれまでの知見

### Inhibitory effect of Pluristem's PLX-R18, an off-the-shelf placental expanded (PLX) cell therapy product generated from placenta-derived mesenchymal-like adherent stromal cells, on acute radiation-induced bone marrow failure.

#### (1) Mechanism of Action of PLX-R18, a Placental-Derived Cellular Therapy for the Treatment of Radiation-Induced Bone Marrow Failure Blood 2015 126:2417 (Article)

#### (2) Pharmacology written Summary from Pluristem

- ① PLX cells are characterized by a high expression of mesenchymal markers (CD105, 73, 90 and 29), and by lack of expression of hematopoietic progenitor marker, white blood cell markers, endothelial marker, erythrocyte cell marker, and HLA class II molecule or co-stimulatory markers.
- ② Conditioned medium from PLX-R18 cells induces in vitro secretion of the anti-inflammatory factor IL-10 from activated U-937 cells and down-regulated secretion of IL-2 from Jurkat cells activated with PMA and PHA.
- ③ In vivo, PLX-R18 treatment stimulates recovery of endogenous hematopoiesis following sub-lethal radiation by inducing endogenous secretion of hematopoietic cytokines, increasing production of hematopoietic progenitor cells, and increasing the circulating levels of various hematopoietic progenitor components.
- ④ In C57BL/6 mice, PLX-R18 treatment ( $2.0 \times 10^6$  cells/ml) (day 1 and 5 after irradiation), inhibited radiation-induced reduction of survival (LD50/30 (853 cGy), LD70/30 (872 cGy), LD90/30 (904 cGy)) and abnormality of blood components (white blood cells, monocytes, red blood cells and platelets) (LD70/30 (872 cGy)).

図2 使用している放射線照射装置

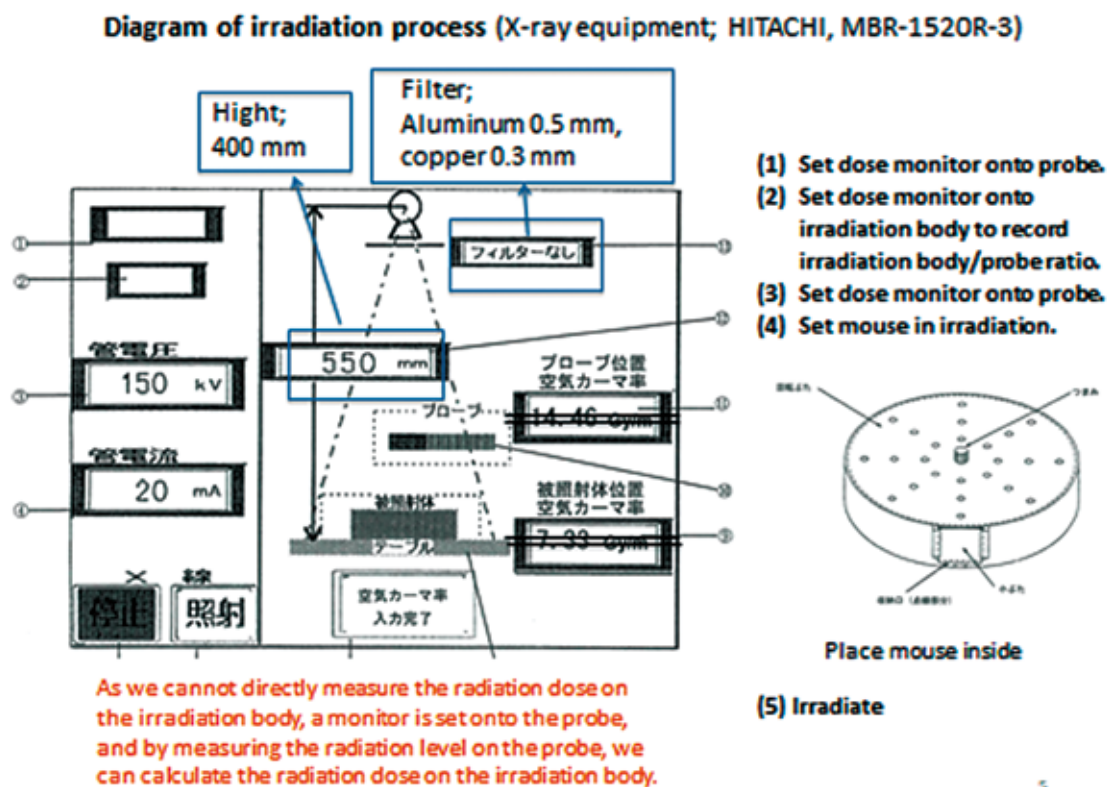
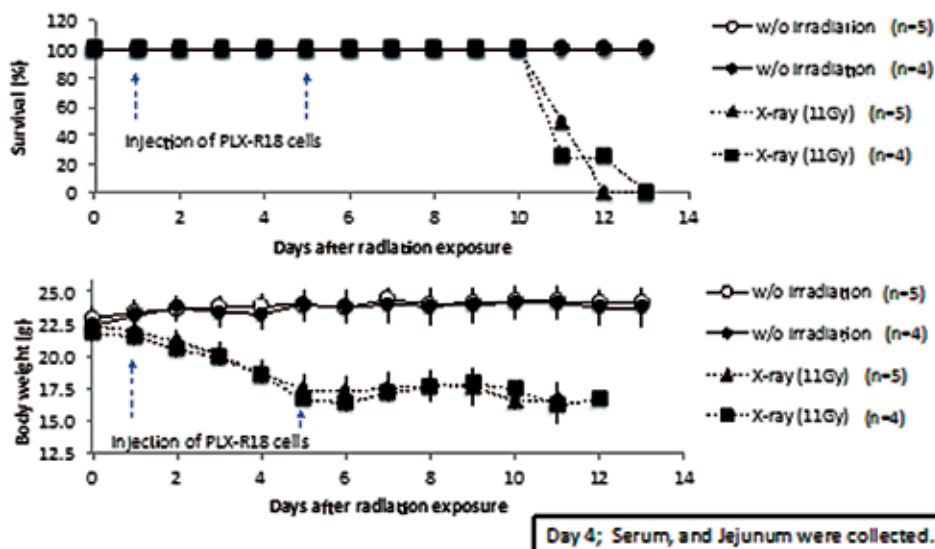


図3 PLX-R18 の全身照射後の効果検討例（生存率と体重）

## Experiment 5

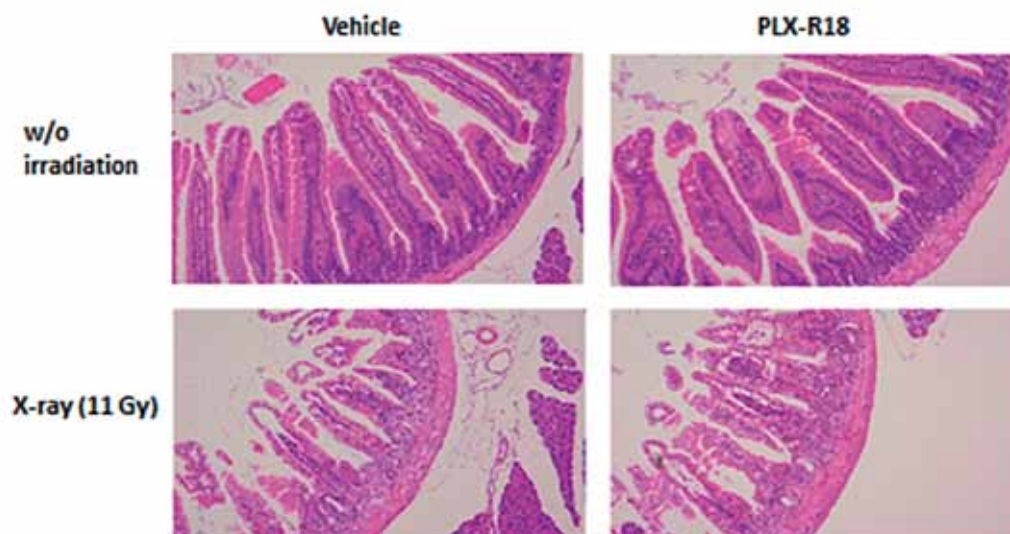


- Death was started at day 11 in 11 Gy X-ray irradiation.
- There was no difference in survival rate between X-ray + vehicle and X-ray + PLX-R18.
- The reduction of body weight was started at day 1 in X-ray irradiation.
- There was no difference in body weight between X-ray + vehicle and X-ray + PLX-R18.

**PLX-R18 did not show efficacy against survival rate and weight loss in TBI (11 Gy)**

図4 PLX-R18の全身照射後の効果検討例（空腸組織像）

## Experiment 5 (Effects of PLX-R18 on GI-ARS Micromorphological Observation)



PLX-R18 did not show effectiveness against prolapse of the small intestine from TBI (11 Gy)

It can be concluded that PLX-R18 did not show effectiveness under conditions of X-Ray Radiation of TBI

11

図5 部分照射（PBI5）の条件

## Conditions for PBI-BM5 experiment

|                            |                                                                                                                                                                                                                                                           |
|----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Shield plate consideration | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Use X-ray protective material, Horn sheet shield, (lead tape; 3 mm)<br/>Shielding rate of 3mm lead tape is more than 99.9%.</li> <li>• Shield both leg of a mouse from the thigh down with lead tape.</li> </ul> |
|----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

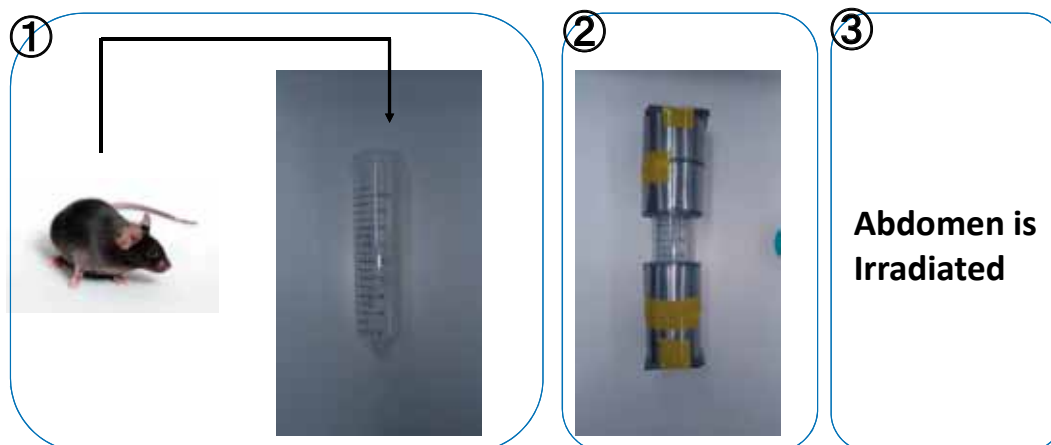


15

図6 部分照射（PBI40）の条件

## Conditions for PBI-BM40 experiment

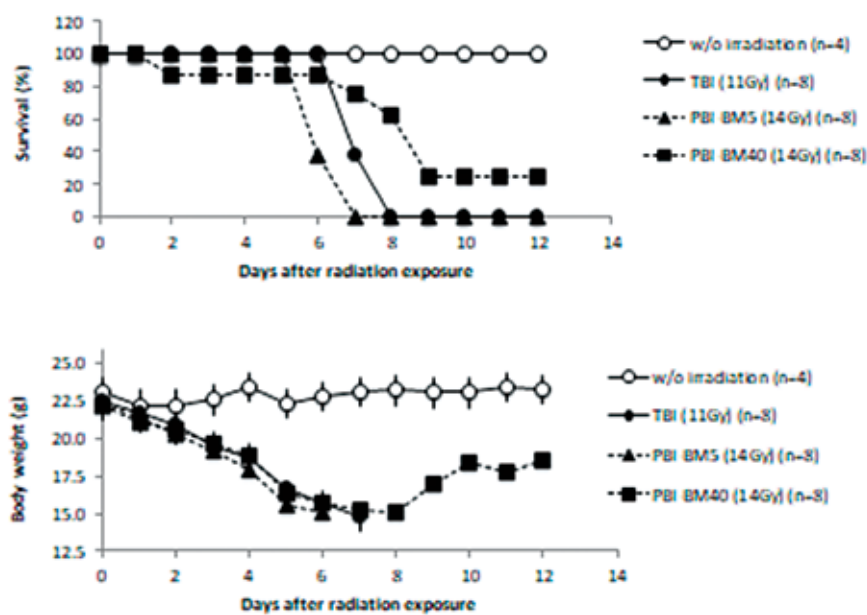
|                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Shield plate consideration and Procedures | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Use X-ray protective material, Horn sheetshield, (lead tape; 1 mm)</li> <li>① Mice are anesthetized by 0.3 mg/kg Medetomidine, 4.0mg/kg Midazolam and 5.0 mg/kg Butorphanol, and put in a 50 ml tube.</li> <li>② The tube is cover by lead tape. Thickness of lead is 3 mm.</li> <li>③ Abdomen is Irradiated</li> </ul> |
|-------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|



2

図7 部分照射（PBI5、PBI40）と全身照射（TBI）の生存率・体重へ影響

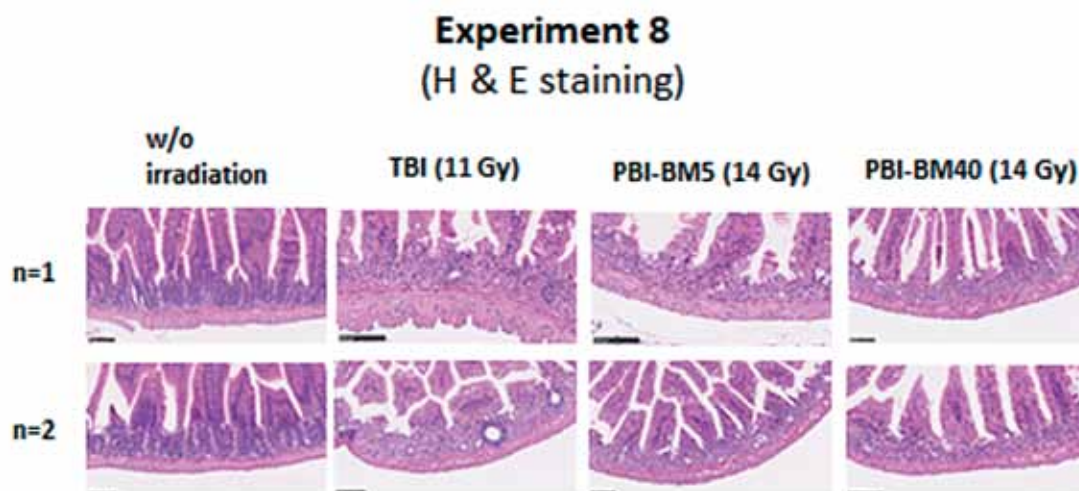
## Experiment 8 (Survival and Body weight)



20

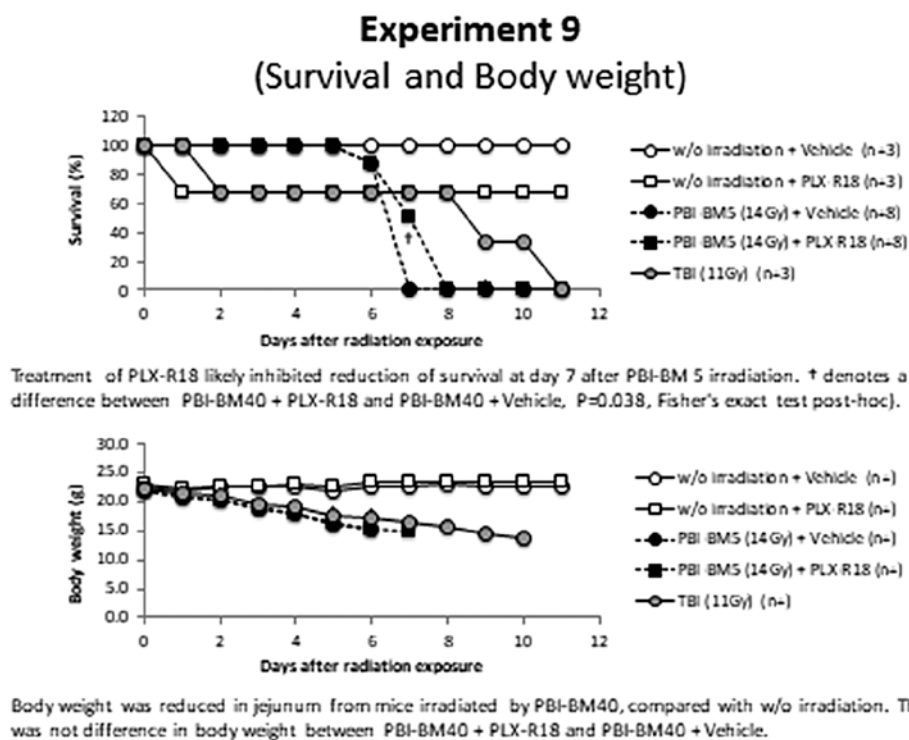


図8 部分照射 (PBI5、PBI40) と全身照射 (TBI) の空腸へ影響



21

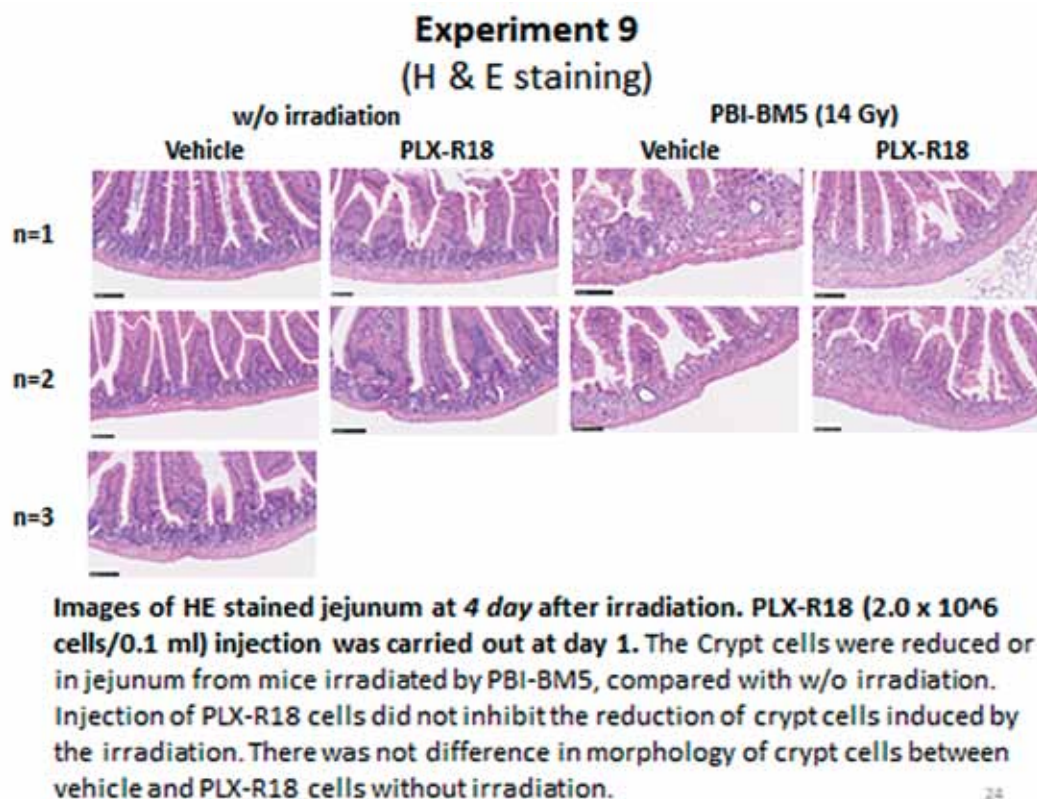
図9 PBI5 マウスにおける PLX-R18 の効果 (生存率、体重)



23



図 10 PBI5 マウスにおける PLX-R18 の効果（空腸）



#### 今後の展望

PBI40、PBI5、TBI の結果から推定しているのは、PLX-R18 の作用機序には骨髄生存は必須の役割を担っていると考えられる。Crypt 細胞数以外の指標を含めて R18 の応答機序の確認が必要となる。現時点では、臨床での適応、投与方法などにつながる知見は得られていない。

一方で、PLX-R18 やその類縁細胞は、GVHD、放射線障害等の適応獲得を目指した開発が継続されている。先行する開発情報を利用しながら、放射線障害に対する適応を模索する。

#### 発表論文

平成 28 年度，29 年度での関連論文の公表はない。

#### 学会発表

平成 28 年度，29 年度での学会発表はない。

（ただし，30 年度の学会発表にエントリー予定である。）

#### その他（特許申請，新聞等広報，受賞，特記事項等）

特記すべき情報はない。

## 放射線誘発 MDS の発症機序の解明

### 研究組織

拠点機関研究者：一戸 辰夫（広島大学原爆放射線医科学研究所：教授）  
 稲葉 俊哉（広島大学原爆放射線医科学研究所：教授）  
 本田 浩章（広島大学原爆放射線医科学研究所：教授）（～6月）  
 中田 雄一郎（広島大学原爆放射線医科学研究所：助教）（7月～）  
 宮崎 泰司（長崎大学原爆後障害医療研究所：教授）

### 研究目的

骨髄異形成症候群（MDS）は高齢者に多い前がん病態であるが、長崎大の研究により長崎の原爆被爆者で線量依存的な増加が認められるほか、放射線誘発・化学療法関連 MDS の発症頻度が高いことで知られている。MDS の原因として、広島大学原医研は、AML1 転写因子の点突然変異や、7 番染色体長腕欠失（7q-）原因遺伝子 *Samd9/Samd9L* の同定など、先端的な成果を多数上げてきた。また、近年次世代シーケンサによる世界レベルの MDS 原因遺伝子検索の結果、MDS に共通して見られる遺伝子異常が同定されてきている。そこで本研究提案では、広島・長崎被爆者 MDS の染色体異常および遺伝子異常の検索を行うほか、*Samd9/Samd9L* や UTX 遺伝子産物の機能解析などを通じて、放射線誘発 MDS の病態解明を行う。

### 研究実施内容

- 1) 原爆被爆後生存者に発生した MDS について染色体異常を非被爆者 MDS と比較し詳細に検討した結果、被爆者の MDS では転座、逆位などの構造異常が多く見られた。特に、染色体 3、8、11 番の異常が有意に多かった。
- 2) *Samd9/L* 遺伝子の機能解析を目的として、ヒトで同定された遺伝子変異を有するマウスを作成し、当該マウスがヒト疾患と酷似した症状を呈することを確認した。このマウスを材料として、分子細胞・マウス個体レベルで検討中である。
- 3) MDS で高頻度に変異を認める UTX の機能欠失マウスを作製し、血液形態異常、造血幹細胞活性低下、髄外造血という MDS に特徴的な所見を認めた。現在その分子機構について解析を進めている。さらに UTX と complex を作る PTIP に着目し、白血病における発現を検索したところ、骨髄球系白血病で発現が低下していることを見出した。興味あることに、PTIP は第 7 番染色体に存在するところから、7q- 症候群発症に寄与している可能性も考えられる。現在 PTIP 欠失マウスを作製し、表現型の解析を行っている。
- 4) MDS を含む放射線誘発・化学療法関連骨髄系腫瘍に対する重要な治療手段である同種造血細胞移植の成績に特定の染色体異常が与える影響を既存資料を用いて解析した。
- 5) 放射線誘発 MDS における造血ニッチの役割を検討するため、特に低線量の放射線照射が骨髄間葉系幹細胞の造血支持能に与える影響を検討した。

### 今後の展望

平成 29 年度における長崎大学と広島大学との本共同研究を通じ、放射線誘発 MDS に特徴的な染色体異常・遺伝子異常と MDS の分子発症機構との関連について、国際的にも貴重な新規知見が多く蓄積された。研究の次年度には、我々が作製した *Samd9/Samd9L* 変異マウス、UTX 欠失マウスおよび PTIP 欠失マウスの造血系解析を行い、また単離した造血幹細胞や造血支持細胞に放射線照射を行うことにより、放射線関連 MDS の発症機構がさらに明らかになるものと期待される。

### 発表論文

- 1) Nakata Y, Ueda U, Nagamachi A, Yamasaki N, Ikeda K, Sera Y, Takubo K, Kanai A, Oda H, Sanada M, Ogawa

- S, Tsuji K, Ebihara Y, Wolff L, Honda Z, Suda T, Inaba T, Honda H. Acquired expression of CblQ367P in mice induces dysplastic myelopoiesis mimicking chronic myelomonocytic leukemia. **Blood**. 2017 Apr; 129(15): 2148-2160.
- 2) Yoshizato T, Nannya Y, Atsuta Y, Shiozawa Y, Iijima-Yamashita Y, Yoshida K, Shiraishi Y, Suzuki H, Nagata Y, Sato Y, Kakiuchi N, Matsuo K, Onizuka M, Kataoka K, Chiba K, Tanaka H, Ueno H, Nakagawa MM, Przychodzen B, Haferlach C, Kern W, Aoki K, Itonaga H, Kanda Y, Sekeres MA, Maciejewski JP, Haferlach T, Miyazaki Y, Horibe K, Sanada M, Miyano S, Makishima H, Ogawa S. Genetic abnormalities in myelodysplasia and secondary acute myeloid leukemia: impact on outcome of stem cell transplantation. **Blood**. 2017 Apr; 129(17):2347-2358.
- 3) Sasatani M, Xi Y, Kajimura J, Kawamura T, Piao J, Masuda Y, Honda H, Kubo K, Mikamoto T, Watanabe H, Xu Y, Kawai H, Shimura T, Noda A, Hamasaki K, Kusunoki Y, Zaharieva EK, Kamiya K. Overexpression of Rev1 promotes the development of carcinogen-induced intestinal adenomas via accumulation of point mutation and suppression of apoptosis proportionally to the Rev1 expression level. **Carcinogenesis**. 2017 May; 38(5):570-578.
- 4) Yanada M, Mori J, Aoki J, Harada K, Mizuno S, Uchida N, Kurosawa S, Toya T, Kanamori H, Ozawa Y, Ogawa H, Henzan H, Iwato K, Sakura T, Ota S, Fukuda T, Ichinohe T, Atsuta Y, Yano S. Effect of cytogenetic risk status on outcomes for patients with acute myeloid leukemia undergoing various types allogeneic hematopoietic cell transplantation: an analysis of 7812 patients. **Leuk Lymphoma**. 2017 Jul; 28:1-9.
- 5) Mori J, Yanada M, Uchida N, Fukuda T, Sakura T, Hidaka M, Watanabe-Inamoto K, Kanamori H, Ogawa H, Ichinohe T, Tanaka J, Atsuta Y, Yano S. Outcomes of allogeneic hematopoietic cell transplantation in acute myeloid leukemia patients with abnormalities of the short arm of chromosome 17. **Biol Blood Marrow Transplant** 2017 Aug;23(8):1389-1404.
- 6) Kojo S, Tanaka H, Endo T, Muroi S, Liu Y, Seol W, Tenno M, Kakugawa K, Naoe Y, Nair K, Moro K, Katsuragi Y, Kanai A, Inaba T, Egawa T, Venkatesh B, Minoda A, Kominami R, Taniuchi I. Priming of lineage-specifying genes by Bcl11b is required for lineage choice in post-selection thymocytes. **Nat Commun**. 2017 Sep; 8(1): 702.
- 7) Kawabata H, Tohyama K, Matsuda A, Araseki K, Hata T, Suzuki T, Kayano H, Shimbo K, Zaike Y, Usuki K, Chiba S, Ishikawa T, Arima N, Nogawa M, Ohta A, Miyazaki Y, Mitani K, Ozawa K, Arai S, Kurokawa M, Takaori-Kondo A; Japanese National Research Group on Idiopathic Bone Marrow Failure Syndromes. Validation of the revised International Prognostic Scoring System in patients with myelodysplastic syndrome in Japan: results from a prospective multicenter registry. **Int J Hematol** 2017 Sep;106(3):375-384.
- 8) Fujishiro A, Miura Y, Iwasa M, Fujii S, Sugino N, Andoh A, Hirai H, Maekawa T, Ichinohe T. Effects of acute exposure to low-dose radiation on the characteristics of human bone marrow mesenchymal stromal/stem cells. **Inflamm Regen**. 2017 Sep;37:19.
- 9) Sugino N, Kawahara M, Tatsumi G, Kanai A, Matsui H, Yamamoto R, Nagai Y, Fujii S, Shimazu S, Hishizawa M, Inaba T, Andoh A, Suzuki T, Takaori-Kondo A. A novel LSD1 inhibitor NCD38 ameliorates MDS-related leukemia with complex karyotype by attenuating leukemia programs via activating super-enhancers. **Leukemia**. 2017 Nov; 31:2303-2314.
- 10) Ueda Y, Ogura M, Miyakoshi S, Suzuki T, Heike Y, Tagashira S, Tsuchiya S, Ohyashiki K, Miyazaki Y. Phase 1/2 study of the WT1 peptide cancer vaccine WT4869 in patients with myelodysplastic syndrome. **Cancer Sci**. 2017 Dec;108(12):2445-2453.
- 11) Meng X, FZhang F, Yan B, Si C, Honda H, Nagamachi A, Sun LZ, and Xiang Y. A Paralogueous Pair of Mammalian Host Restriction Factors Form a Critical Host Barrier against Poxvirus Infection. **PLoS Pathog**. 2018 Feb; 14(2):e1006884.
- 12) Horai M, Satoh S, Matsuo M, Iwanaga M, Horio K, Jo T, Takasaki Y, Kawaguchi Y, Tsushima H, Yoshida S, Taguchi M, Itonaga H, Sawayama Y, Taguchi J, Imaizumi Y, Hata T, Moriuchi Y, Haase D, Yoshiura KI, Miyazaki Y. Chromosomal analysis of myelodysplastic syndromes among atomic bomb survivors in Nagasaki. **Br J Haematol**. 2018 Feb;180(3):381-390.

- 13) Harada K, Doki N, Aoki J, Mori J, Machida S, Masuko M, Uchida N, Najima Y, Fukuda T, Kanamori H, Ogawa H, Ota S, Ogawa K, Takahashi S, Kasai M, Maeda A, Nagafuji K, Kawakita T, Ichinohe T, Atsuta Y. Outcomes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with acute myeloid leukemia harboring t(7;11)(p15;p15). *Haematologica*. 2018 Feb; 103(2):e69-e72.
- 14) Itonaga H, Aoki K, Aoki J, Ishikawa T, Ishiyama K, Uchida N, Sakura T, Ohashi K, Kurokawa M, Ozawa Y, Matsuoka KI, Nakamura Y, Kimura F, Iwato K, Nawa Y, Hirokawa M, Kato K, Ichinohe T, Atsuta Y, Miyazaki Y. Prognostic Impact of Donor Source on Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation Outcomes in Adults with Chronic Myelomonocytic Leukemia: A Nationwide Retrospective Analysis in Japan. *Biol Blood Marrow Transplant*. Epub 2017 Nov 28. pii: S1083-8791(17)30862-5.
- 15) Inoue D, Fujino T, Sheridan P, Zhang YZ, Nagase R, Horikawa S, Li Z, Matsui H, Kanai A, Saika M, Yamaguchi R, Kozuka-Hata H, Kawabata KC, Yokoyama A, Goyama S, Inaba T, Imoto S, Miyano S, Xu M, Yang FC, Oyama M, Kitamura T. A novel ASXL1-OGT axis plays roles in H3K4 methylation and tumor suppression in myeloid malignancies. *Leukemia*. Epub 2018 Mar 3.
- 16) Inaba T, Honda H, Matsui H. The enigma of monosomy 7. *Blood*. (in press)

#### 代表的な学会発表

- 1) Itonaga H, Ishiyama K, Aoki J, Aoki K, Ishikawa T, Uchida N, Ohashi K, Ueda Y, Fukuda T, Ichinohe T, Takahashi M, Atsuta Y, Miyazaki Y. Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Patients Aged 60 Years or Older with Myelodysplastic Syndromes in Japan (Plenary Session). The 14th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes. 平成 29 年 5 月.
- 2) 金森貴之, 南谷泰仁, 吉田健一, 片岡圭亮, 田中洋子, 千葉健一, 白石友一, 麻生範雄, 千葉 滋, 直江知樹, 宮崎泰司, 宮野 悟, 小川誠司: 全ゲノムシーケンスを用いた MDS の病態解明. 第 76 回日本癌学会学術総会. 平成 29 年 9 月.
- 3) Nagamachi A, Matsui H, Kanai A, Honda H, Inaba H. The role of Samd9 and Samd9L in the early endocytotic pathway. 第 76 回日本癌学会学術総会. 平成 29 年 9 月.
- 4) 南谷泰仁, 竹田淳恵, 佐藤信也, 白石友一, 吉田健一, 塩澤裕介, 牧島秀樹, 中尾眞二, 大屋敷一馬, 宮崎泰司, 直江知樹, 宮野 悟, 小川誠司: Efficacy of azacitidine for TP53-mutated myelodysplastic syndromes (MDS) / TP53 遺伝子変異陽性骨髄異形成症候群に対するアサシチジン治療の有効性. 第 76 回日本癌学会学術総会. 平成 29 年 9 月.
- 5) 吉里哲一, 南谷泰仁, 熱田由子, 塩澤裕介, 吉田健一, 片岡圭介, 白石友一, 真田 昌, 神田善伸, 宮崎泰司, 宮野 悟, 牧島秀樹, 小川誠司: U2AF2 mutations in myelodysplastic syndromes / 骨髄異形成症候群における U2AF2 変異. 第 76 回日本癌学会学術総会 平成 29 年 9 月.
- 6) 長町安希子, 松井啓隆, 金井昭教, 本田浩章, 稲葉俊哉: MDS 責任遺伝子 Samd9/Samd9L のエンドサイトーシス経路における機能解析 第 79 回日本血液学会学術集会. 平成 29 年 10 月.
- 7) 南谷泰仁, 吉田健一, 竹田淳恵, 吉里哲一, 片岡圭亮, 中川正宏, 牧島秀樹, 白石友一, 千葉健一, 田中洋子, 直江知樹, 清井 仁, 千葉 滋, 麻生範雄, 宮崎泰司, 宮野 悟, 小川誠司: Integrated molecular analysis of myelodysplastic syndromes using whole genome sequencing / 骨髄異形成症候群の全ゲノム解析による分子病態の解明. 第 79 回日本血液学会学術集会. 平成 29 年 10 月.
- 8) 南谷泰仁, 竹田淳恵, 佐藤信也, 塩澤裕介, 白石友一, 片岡圭亮, 千葉健一, 田中洋子, 真田 昌, 千葉 滋, 麻生範雄, 清井 仁, 中尾眞二, 大屋敷一馬, 宮崎泰司, 直江知樹, 牧島秀樹, 吉田健一, 宮野 悟, 小川誠司: Specific effect of azacitidine for TP53 (+) MDS / TP53 陽性 MDS に対するアザシチジンの有効性 (Plenary Session). 第 79 回日本血液学会学術集会. 平成 29 年 10 月.
- 9) 吉里哲一, 南谷泰仁, 熱田由子, 塩澤裕介, 吉田健一, 鬼塚真仁, 片岡圭亮, 千葉健一, 田中洋子, 白石友一, 真田 昌, 糸永英弘, 神田善伸, 宮崎泰司, 宮野 悟, 牧島秀樹, 小川誠司: U2AF2 mutations in myelodysplastic syndromes. / 骨髄異形成症候群における U2AF2 変異. 第 79 回日本血液学会学術集会. 平成 29 年 10 月.
- 10) 藤岡真知子, 糸永英弘, 塚田幸絵, 坂本 光, 千綿雅彦, 鳥山愛生, 小林裕児, 佐藤信也, 澤山 靖, 田口 潤,

今泉芳孝, 波多智子, 新野大介, 宮崎泰司: Successful treatment of azacitidine followed by HSCT for MDS with myelofibrosis. / 移植前のアザシチジン治療により骨髓線維化が改善した骨髓異形成症候群. 第79回日本血液学会学術集会. 平成29年10月.

- 11) 世良康如, 上田健, 中田雄一郎, 池田健一郎, 山崎憲政, 小田秀明, 長町安希子, 金井昭教, 須田年男, 田久保圭誉, 稲葉俊哉, 本田浩章: H3K27 脱メチル化酵素 UTX は老化関連遺伝子の制御を介し造血幹細胞維持に重要な役割をもつ. 第79回日本血液学会学術集会. 平成29年10月.
- 12) Itonaga H, Miyazaki Y, Imai K, Hasegawa Y, Ikeda T, Taji H, Amano I, Ichinohe T, Fukuda T, Atsuta Y, Tanizawa A, Kondo T. Allo-HSCT for chronic neutrophilic leukemia and atypical chronic myeloid leukemia. 第79回日本血液学会学術集会. 平成29年10月.
- 13) Nannya Y, Takeda J, Sato S, Shiozawa Y, Shiraishi Y, Kataoka K, Chiba K, Tanaka H, Chiba S, Asou N, Kiyoi H, Imai K, Hirase C, Dobashi N, Kiguchi T, Nakao S, Ohyashiki K, Miyazaki Y, Naoe T, Makishima H, Miyano S, Yoshida K and Ogawa S. Molecular Signatures That Predict Response to Azacitidine Treatment for Myelodysplastic Syndromes. American Society of Hematology 59th Annual Meeting and Exposition. 平成29年12月.
- 14) Miyazaki Y, Horai M, Iwanaga M, Sato S, Matsuo M, Horio K, Jo T, Takasaki Y, Kawaguchi Y, Tsushima H, Yoshida S, Taguchi M, Itonaga H, Sawayama Y, Taguchi J, Imaizumi Y, Hata T, Moriuchi Y, Haase D and Yoshiura K. Chromosomal Analysis of Myelodysplastic Syndromes Among Atomic Bomb Survivors in Nagasaki. American Society of Hematology 59th Annual Meeting and Exposition. 平成29年12月.
- 15) 青木淳, 石山謙, 内田直之, 福田隆浩, 大橋一輝, 日高道弘, 小林直樹, 佐倉徹, 青墳信之, 奥村廣和, 一戸辰夫, 田中淳司, 熱田由子, 矢倉真吾. Inv (3) (q21;q26.2) /t(3;3) (q21;q26.2) を伴う急性骨髓性白血病に対する同種造血幹細胞移植. 第40回日本造血細胞移植学会総会. 平成30年2月.

その他（本課題に少しでも関連する特許申請, 新聞等広報, 受賞等）

特記事項なし



# 原爆被爆者の手記を利用したテキスト解析による被爆の実像解明

## 研究組織

拠点機関研究者：佐藤 健一（広島大学原爆放射線医科学研究所：准教授）

横田 賢一（長崎大学原爆後障害医療研究所：助教）

## 研究目的

原爆被爆者の高齢化が進む中、体験者によって語られる被爆の実像解明が徐々に困難になってきている。同様に、被爆体験を次世代に伝える重要性も増している。また、福島などの被災地では復興に向けてリスクコミュニケーションの在り方が問われており、広島・長崎での復興にむけた取り組みに関する史資料の活用が望まれている。

これらの問題に対するアプローチとして、統計的なテキスト解析の利用が考えられる。すなわち、読み切れないほど膨大なテキスト情報であっても要約することで、内容の把握が容易になり、その利用範囲が広がることが期待される。すでに、長崎大学においては1300件もの被爆者証言がテキスト化されている。一方、広島大学においてはテキスト解析の方法論は先行しているが、紙資料のデジタル化が遅れている。

本研究では、広島大学が保有するテキスト解析の技術と長崎大学が持つテキスト化の取り組みをお互いに参照し、研究活動を補うことで、原爆被爆者を社会科学的な側面から記述・解明することを目的とする。

## 研究実施内容

長崎市が保有する原子爆弾被爆者健康意識調査（平成15年）及び原子爆弾被爆者健康調査（平成9年）において収集された1,250件の「被爆体験に対する聞き取り」についてテキスト解析を行った。解析対象となったキーワードリストを表1に、キーワードの親疎遠近を図1および図2に示す。そして、証言との背景要因を図3および図4に示す。

表1. 頻出キーワードリスト 形態素解析によって抽出された頻度が550以上の単語91個をテキスト解析の対象とした。

| 単語   | 頻度   | 単語  | 頻度   | 単語  | 頻度  | 単語   | 頻度  | 単語  | 頻度  |
|------|------|-----|------|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| 言う   | 9796 | 年   | 1799 | 知る  | 959 | 通る   | 731 | 目   | 592 |
| 行く   | 6913 | 母   | 1797 | 姉   | 953 | 先生   | 730 | 感じ  | 585 |
| 思う   | 5404 | 被爆  | 1604 | 弟   | 944 | 今度   | 730 | 小学校 | 584 |
| 人    | 5239 | 父   | 1452 | 才   | 932 | 残る   | 711 | 生活  | 584 |
| 今    | 4068 | 怪我  | 1418 | 考える | 925 | 爆弾   | 699 | 三菱  | 583 |
| 家    | 3687 | 長崎  | 1364 | 昔   | 924 | 取る   | 673 | 爆風  | 575 |
| 原爆   | 3666 | 病院  | 1328 | 逃げる | 919 | 出来る  | 673 | 寝る  | 571 |
| 帰る   | 3341 | 行う  | 1291 | 連れる | 917 | 上    | 655 | 友達  | 566 |
| 来る   | 2600 | 一番  | 1278 | 水   | 912 | 工場   | 626 | 受ける | 561 |
| 自分   | 2497 | 歩く  | 1224 | 当時  | 910 | 人達   | 625 | 外   | 561 |
| 出る   | 2384 | 持つ  | 1199 | 覚える | 897 | 戦争   | 621 | 飲む  | 552 |
| 見る   | 2381 | 食べる | 1170 | 妹   | 881 | 山    | 621 |     |     |
| 子供   | 2302 | 居る  | 1156 | ガラス | 868 | 病気   | 620 |     |     |
| 防空壕  | 2259 | 下   | 1124 | 主人  | 838 | 変わる  | 618 |     |     |
| 亡くなる | 2081 | 全部  | 1123 | 月   | 790 | 仕事   | 616 |     |     |
| 入る   | 2070 | 燃える | 1063 | 道   | 787 | 兄    | 611 |     |     |
| 死ぬ   | 2041 | 一緒  | 1055 | 結局  | 775 | 飛ぶ   | 598 |     |     |
| 分かる  | 1995 | 聞く  | 1023 | 疎開  | 774 | 思い出す | 597 |     |     |
| 落ちる  | 1973 | 学校  | 983  | 生きる | 763 | 頭    | 595 |     |     |
| 前    | 1811 | 本当  | 977  | 火傷  | 758 | 子    | 592 |     |     |



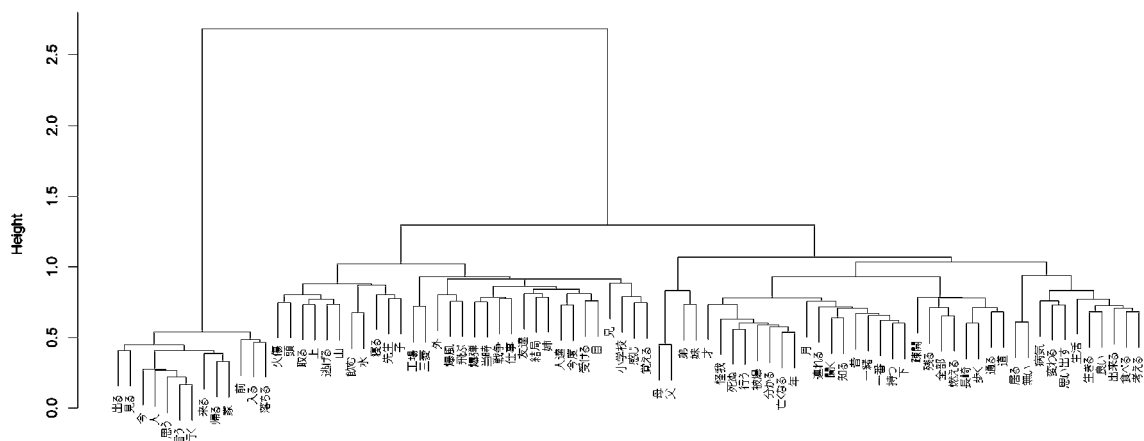


図1. キーワードのジャッカド距離にもとづくウォード法による階層型クラスター分析。



図2. キーワードのジャッカド距離にもとづく多次元尺度法による配置図。



図3. 被爆時年齢別のキーワードの頻度にもとづく対応分析による配置図。

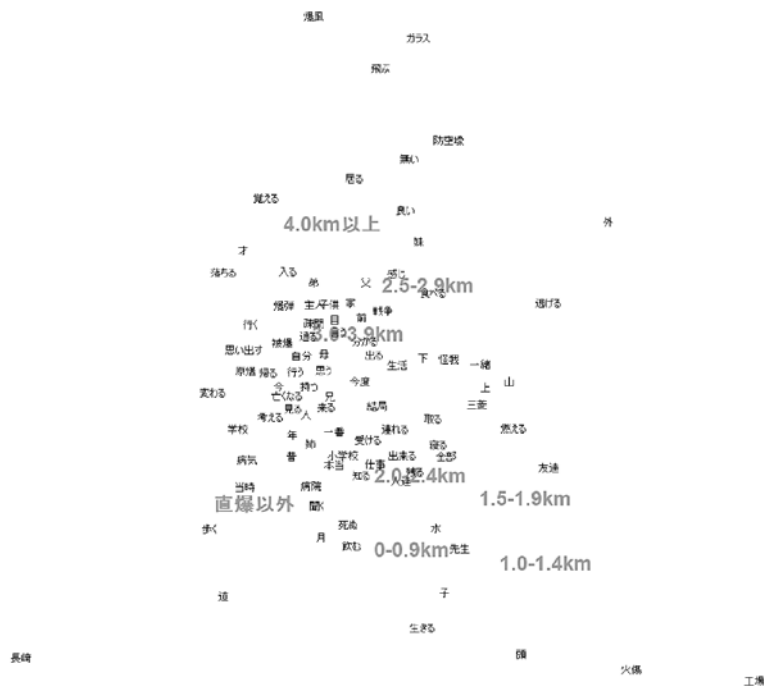


図4. 被爆時所在地の爆心地からの地上距離別のキーワードの頻度にもとづく対応分析による配置図。

## 今後の展望

今後は、広島・長崎で蓄積したテキスト解析のノウハウを被災地である福島資料の解析に応用し、新たな知見に結び付けたい。

発表論文

- 佐藤健一, 久保田明子, 根本真実, 長谷川有史: 経時変化をとまなう被ばく・被災関連資料のテキスト解析, 広島医学, 印刷中.
- 横田賢一, 三根眞理子, 吉峯悦子, 近藤久義: 長崎市高齢被爆者の健康と生活状況の変化に関する分析, 広島医学, 印刷中.
- Hiromitsu Watanabe, Megumi Sasatani, Toshiki Doi, Takao Masaki, Kenichi Satoh and Masao Yoshizumi: Protective effects of Japanese soybean paste (miso) on stroke in stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP), American Journal of Hypertension, 31, 43-47, 2017 年 12 月 8 日.
- Shizue Izumi, Tetsuji Tonda, Noriyuki Kawano, Kenichi Satoh: Estimating and Visualizing the Time-varying Effects of a Binary Covariate on Longitudinal Big Text Data, International Journal of Networked and Distributed Computing, 5, 243-253, 2017 年 10 月 1 日.
- Satoh, Kenichi; Yasuda, Hiroshi; Kawakami, Hideshi; Tashiro, Satoshi: Relative biological effectiveness of neutrons derived from the excess relative risk model with the atomic bomb survivors data managed by Hiroshima University, Radiation Protection Dosimetry, 2017 年 9 月 23 日.
- Kenichi Yokota, Mariko Mine, Hisayoshi Kondo, Naoki Matsuda, Yoshisada Shibata, Noboru Takamura: Cancer mortality in residents of the terrain-shielded area exposed to fallout from the Nagasaki atomic bombing, Journal of Radiation Research, 59(1), 1-9, 2017 年 9 月 21 日.
- Kimio Tanaka, Kenichi Satoh and Atushi Kohda: Application of Lymphocyte Chromosome Aberrations for Biodosimetry of Low-Dose-Rate Chronic Irradiation, Radiation Environment and Medicine, 62-70, 2017 年 8 月 1 日.
- T. Tonda and K. Satoh: Estimating varying coefficients for a balanced growth curve model without specifying spatial-temporal baseline trend, Journal of The Japan Statistical Society, 47, 1-12, 2017 年 6 月 1 日.
- Ken-ichi Kamo, Tetsuji Tonda, Kenichi Satoh: Growth Analysis Using Nuisance Baseline, FORMATH, 16, 12-21.

2017 年 4 月 7 日.

#### 学会発表

- 横田賢一, 三根真理子, 近藤久義, 松田尚樹, 柴田義貞, 高村昇: 長崎原爆の放射性降下物による被曝のがん死亡への効果. 第 28 回日本疫学会学術総会, 2018 年 2 月 3 日.
- 三根真理子, 横田賢一: 高齢者の自立した生活と関連する要因は何か. 第 28 回日本疫学会学術総会, 2018 年 2 月 3 日.
- 横田賢一, 三根真理子: 超高齢者の介助状態と生活要因の変化. 第 76 回日本公衆衛生学会総会, 平成 29 年 11 月 1 日.
- 三根真理子, 横田賢一: 超高齢者の自立度と関連する要因. 第 76 回日本公衆衛生学会総会, 2017 年 11 月 1 日.
- 横田賢一, 三根真理子: 長崎原爆の残留放射線被曝とがん死亡率. 日本放射線影響学会第 60 回大会, 2017 年 10 月 26 日.
- 三根真理子, 横田賢一: 超高齢被爆者の被曝と生活状況の関連. 日本放射線影響学会第 60 回大会, 2017 年 10 月 26 日.
- 島崎達也, 川原修, 横田賢一, 白石善興, 松田尚樹, 岡田誠治: 低線被ばく評価に用いる ESR 線量測定における医療放射線の影響. 日本放射線影響学会第 60 回大会, 2017 年 10 月 26 日.
- 佐藤健一, 富田哲治, 和泉志津恵: 変化係数を利用したロジスティックモデルによる生存時間解析の試み, 2017 年度統計関連学会連合大会, 2017 年 9 月 6 日.
- 富田哲治, 加茂憲一, 佐藤健一: 経時離散データに対するベースラインを特定しない変化係数の推測について, 2017 年度統計関連学会連合大会, 2017 年 9 月 6 日.
- Kenichi Satoh, Tetsuji Tonda, Shizue Izumi: Logistic Regression Model for Survival Time Analysis Using Time-Varying Coefficients, the 21st International Epidemiological Association (IEA) World Congress of Epidemiology (WCE2017), Saitama, JAPAN, 2017 年 8 月 19 日.
- Tetsuji Tonda, Kenichi Satoh, Ken-ichi Kamo: Statistical method estimating varying coefficients for longitudinal data without specifying spatial-temporal baseline trend and its application to cancer mortality data, the 21st International Epidemiological Association (IEA) World Congress of Epidemiology (WCE2017), Saitama, JAPAN, 2017 年 8 月 19 日.
- 佐藤健一, 富田哲治, 田代聡: 広島大学原爆被爆者コホートデータにおける要約活用の試み, 第 42 回中国地区放射線影響研究会 2017 年 07 月 27 日
- Izumi S., Tonda T., Kawano N., Satoh K: Visualize the longitudinal big text data with a binary covariate: An approach based on keyword's frequency. 2nd International Conference on Big Data, Cloud Computing, and Data Science, Hamamatsu, JAPAN, 2017 年 7 月 9 日.
- 富田哲治, 佐藤健一, 和泉志津恵: 広島・長崎平和宣言における平和観の経時変化の違いについて～単語出現頻度に基づく考察, 第 58 回原子爆弾後障害研究会 2017 年 6 月 4 日.
- 佐藤健一, 富田哲治, 保田浩志, 川上秀史, 田代 聡: 広島原爆被爆者コホートデータにおける固形がん死亡危険度に対する中性子線の生物学的効果比について, 第 58 回原子爆弾後障害研究会 2017 年 6 月 4 日
- 横田賢一, 三根真理子, 吉峯悦子, 近藤久義: 長崎市高齢被爆者の健康と生活状況の変化に関する分析. 第 58 回原子爆弾後障害研究会, 2017 年 6 月 4 日.
- 三根真理子, 横田賢一, 吉峯悦子, 近藤久義: 長崎市超高齢者の健康状況. 第 58 回原子爆弾後障害研究会, 2017 年 6 月 4 日.
- 近藤久義, 早田みどり, 横田賢一, 三根真理子, 中島正洋, 三浦史郎, 高村昇: 長崎市原爆被爆者の同時性重複癌罹患率に対する被爆距離の影響. 第 58 回原子爆弾後障害研究会, 2017 年 6 月 4 日.
- K. Satoh, H. Yasuda, H. Kawakami, Y. Takihara: Relative biological effectiveness of neutrons derived from the ERR model with the atomic bomb survivors data managed by Hiroshima University, NEUDOS-13 (NEUTRON AND ION DOSIMETRY SYMPOSIUM), Poland, 2017 年 5 月 14 日.

#### その他（特許申請, 新聞等広報, 受賞, 特記事項等）

特になし。

# 広島・長崎・福島における放射線被ばく者コホート による健康影響の解明

## 研究組織

拠点機関研究者：佐藤 健一（広島大学原爆放射線医科学研究所：准教授）

横田 賢一（長崎大学原爆後障害医療研究所：助教）

## 研究目的

広島大学および長崎大学は原爆被爆者コホートを有しており、各種調査および死因の情報を蓄積している。福島県立医科大学においても被災住民の追跡が開始されており、低線量被ばくの影響解明に寄与する知見が求められている。それぞれの集団を対象にして、以下の共通のテーマについて相互に連携し、特に低線量被ばくを中心とした放射線健康影響に関する疫学的解明を目指す。

### ● 線量推定の改訂

広島では最新の DS02 に準じた方式により原爆放射線の外部被曝線量が推定されているが、長崎では旧 DS86 に準じたものであり改訂が望まれている。

### ● 死亡リスク評価

放射線影響研究所は固形がんの超過相対死亡危険度（ERR）を 1Sv 当たり 42% と報告している。広島は ERR モデルによる評価を始めた。長崎は同様の解析が、また福島にも将来の死亡解析に備えることが求められる。

### ● 健康診断データの活用

長期の健康診断データを活用した放射線影響評価（長崎）、がん検診などの利用方法（広島）、甲状腺疾患と被ばくとの関連等の検討（福島）において、今後共同テーマについての解析がそれぞれ可能かについて、背景要因の選定、あるいはその測定精度について検証を行う。

## 研究実施内容

長崎大および広島大を互いに訪問し、それぞれの持つ被爆者コホートデータの構造、線量評価方式について意見交換を行った。図 1 あるいは図 2 に示すような広島大の ABS93D において被爆所在地の位置情報の高精度化を行った際の基礎資料の説明に加えて、図 3 および図 4 に示す ABS93D から DS02 準拠の ABS16D に改訂した場合の被ばく線量の絶対変化量、あるいは相対変化量について議論し、これにともなう固形がん死亡リスクの変化（表 1）を推定するための ERR モデルについて統計的な推測方法について理解を深めた。

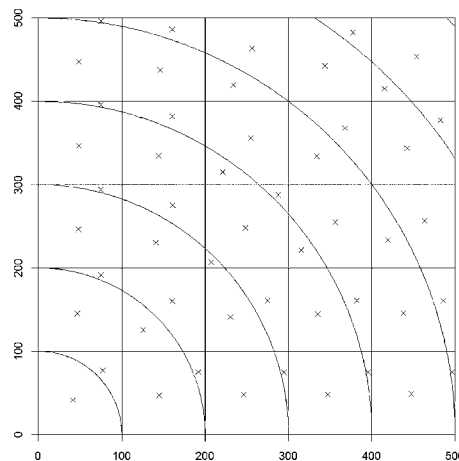


図 1. 100m メッシュ座標における分割領域とその重心点（一部抜粋）。任意の被爆時所在地はバツ印で示される領域の重心点で代用されるため、被爆距離や初期放射線量の精度が下がるという問題が生じる。

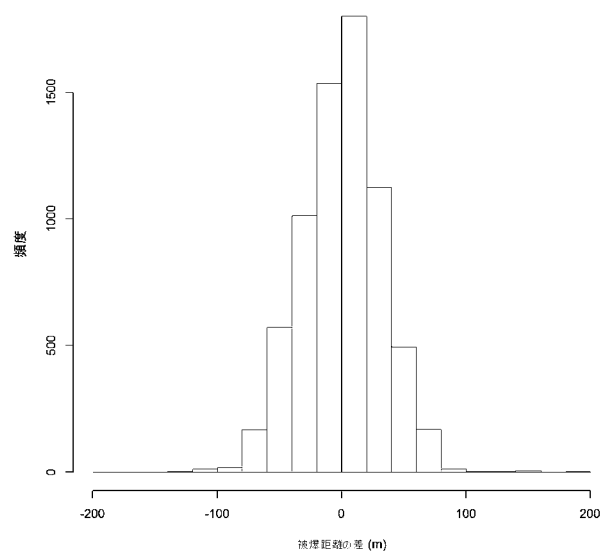


図2. 被爆時所在地の修正による被爆距離の差の分布。ピンポイント座標から従来のメッシュ座標による被爆距離を引いた。

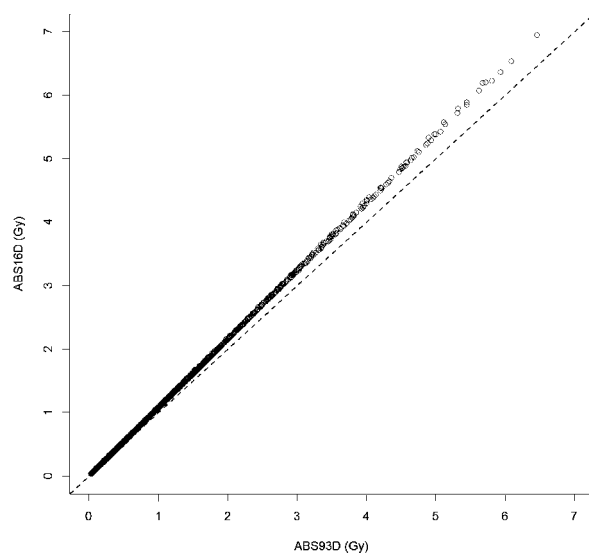


図3. 線量評価システムの更新による初期放射線量の違い。破線は直線  $y=x$  を示す。

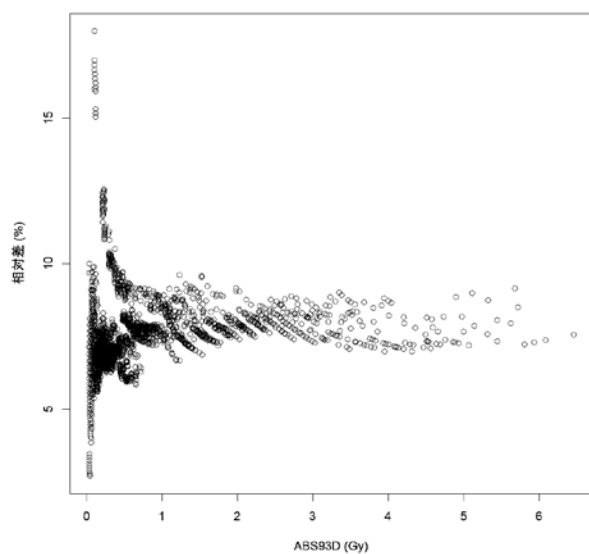


図4. 線量評価システムの更新による初期放射線量の相対差。

表1. 線量評価システムの更新による固形がん死亡危険度の推定値の変化。ERR の相対差は  $100 \times (0.276-0.298)/0.298 = -7.4$  (%) と算出できる。

| 回帰係数     |              | ABS93D   | ABS16D   |
|----------|--------------|----------|----------|
| $\beta$  | 初期放射線量 (ERR) | 0.298    | 0.276    |
| $\tau$   | 被爆時年齢        | -0.237   | -0.237   |
| $\nu$    | 到達年齢         | -3.449   | -3.443   |
| $\sigma$ | 性            | 0.596    | 0.596    |
|          | 対数尤度         | -8533.83 | -8533.92 |

## 今後の展望

今後は、長崎の持つコホートデータにおいて線量評価システムを DS02 準拠のものに改訂できるように準備を進め、新たな線量を用いて固形がん死亡リスクを ERR モデルで推定するためのコンピュータプログラミングのコードを開発する。そして、その妥当性を広島大あるいは放射線影響研究所の結果と比較し確認したい。

## 発表論文

- 佐藤健一, 久保田明子, 根本真実, 長谷川有史: 経時変化をともなう被ばく・被災関連資料のテキスト解析、広島医学、印刷中。
- 横田賢一, 三根真理子, 吉峯悦子, 近藤久義: 長崎市高齢被爆者の健康と生活状況の変化に関する分析、広島医学、印刷中。
- Hiromitsu Watanabe, Megumi Sasatani, Toshiki Doi, Takao Masaki, Kenichi Satoh and Masao Yoshizumi: Protective effects of Japanese soybean paste (miso) on stroke in stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP), American Journal of Hypertension, 31, 43-47, 2017 年 12 月 8 日。
- Shizue Izumi, Tetsuji Tonda, Noriyuki Kawano, Kenichi Satoh: Estimating and Visualizing the Time-varying Effects of a Binary Covariate on Longitudinal Big Text Data, International Journal of Networked and Distributed Computing, 5, 243-253, 2017 年 10 月 1 日。
- Satoh, Kenichi; Yasuda, Hiroshi; Kawakami, Hideshi; Tashiro, Satoshi: Relative biological effectiveness of neutrons derived from the excess relative risk model with the atomic bomb survivors data managed by Hiroshima University, Radiation Protection Dosimetry, 2017 年 9 月 23 日。
- Kenichi Yokota, Mariko Mine, Hisayoshi Kondo, Naoki Matsuda, Yoshisada Shibata, Noboru Takamura: Cancer mortality in residents of the terrain-shielded area exposed to fallout from the Nagasaki atomic bombing, Journal of Radiation Research 59(1), 1-9, 2017 年 9 月 21 日。
- Kimio Tanaka, Kenichi Satoh and Atushi Kohda: Application of Lymphocyte Chromosome Aberrations for Biodosimetry of Low-Dose-Rate Chronic Irradiation, Radiation Environment and Medicine, 62-70, 2017 年 8 月 1 日。
- T. Tonda and K. Satoh: Estimating varying coefficients for a balanced growth curve model without specifying spatial-temporal baseline trend, Journal of The Japan Statistical Society, 47, 1-12, 2017 年 6 月 1 日。
- Ken-ichi Kamo, Tetsuji Tonda, Kenichi Satoh: Growth Analysis Using Nuisance Baseline, FORMATH, 16, 12-21, 2017 年 4 月 7 日。

## 学会発表

- 横田賢一, 三根真理子, 近藤久義, 松田尚樹, 柴田義貞, 高村昇: 長崎原爆の放射性降下物による被曝のがん死亡への効果。第 28 回日本疫学会学術総会, 2018 年 2 月 3 日。
- 三根真理子, 横田賢一: 高齢者の自立した生活と関連する要因は何か。第 28 回日本疫学会学術総会, 2018 年 2 月 3 日。
- 横田賢一, 三根真理子: 超高齢者の介助状態と生活要因の変化。第 76 回日本公衆衛生学会総会, 平成 29 年 11 月 1 日。
- 三根真理子, 横田賢一: 超高齢者の自立度と関連する要因。第 76 回日本公衆衛生学会総会, 2017 年 11 月 1 日。
- 横田賢一, 三根真理子: 長崎原爆の残留放射線被曝とがん死亡率。日本放射線影響学会第 60 回大会, 2017 年 10 月 26 日。



- 三根真理子, 横田賢一: 超高齢被爆者の被爆と生活状況の関連. 日本放射線影響学会第 60 回大会, 2017 年 10 月 26 日.
- 島崎達也, 川原修, 横田賢一, 白石善興, 松田尚樹, 岡田誠治: 低線被ばく評価に用いる ESR 線量測定における医療放射線の影響. 日本放射線影響学会第 60 回大会, 2017 年 10 月 26 日.
- 佐藤健一, 富田哲治, 和泉志津恵: 変化係数を利用したロジスティックモデルによる生存時間解析の試み, 2017 年度統計関連学会連合大会, 2017 年 9 月 6 日.
- 富田哲治, 加茂憲一, 佐藤健一: 経時離散データに対するベースラインを特定しない変化係数の推測について, 2017 年度統計関連学会連合大会, 2017 年 9 月 6 日.
- Kenichi Satoh, Tetsuji Tonda, Shizue Izumi: Logistic Regression Model for Survival Time Analysis Using Time-Varying Coefficients, the 21st International Epidemiological Association (IEA) World Congress of Epidemiology (WCE2017), Saitama, JAPAN, 2017 年 8 月 19 日.
- Tetsuji Tonda, Kenichi Satoh, Ken-ichi Kamo: Statistical method estimating varying coefficients for longitudinal data without specifying spatial-temporal baseline trend and its application to cancer mortality data, the 21st International Epidemiological Association (IEA) World Congress of Epidemiology (WCE2017), Saitama, JAPAN, 2017 年 8 月 19 日.
- 佐藤健一, 富田哲治, 田代聡: 広島大学原爆被爆者コホートデータにおける要約活用の試み, 第 42 回中国地区放射線影響研究会 2017 年 07 月 27 日
- Izumi S., Tonda T., Kawano N., Satoh K: Visualize the longitudinal big text data with a binary covariate: An approach based on keyword's frequency. 2nd International Conference on Big Data, Cloud Computing, and Data Science, Hamamatsu, JAPAN, 2017 年 7 月 9 日.
- 富田哲治, 佐藤健一, 和泉志津恵: 広島・長崎平和宣言における平和観の経時変化の違いについて～単語出現頻度に基づく考察, 第 58 回原子爆弾後障害研究会 2017 年 6 月 4 日.
- 佐藤健一, 富田哲治, 保田浩志, 川上秀史, 田代 聡: 広島原爆被爆者コホートデータにおける固形がん死亡危険度に対する中性子線の生物学的効果比について, 第 58 回原子爆弾後障害研究会 2017 年 6 月 4 日
- 横田賢一, 三根真理子, 吉峯悦子, 近藤久義: 長崎市高齢被爆者の健康と生活状況の変化に関する分析. 第 58 回原子爆弾後障害研究会, 2017 年 6 月 4 日.
- 三根真理子, 横田賢一, 吉峯悦子, 近藤久義: 長崎市超高齢者の健康状況. 第 58 回原子爆弾後障害研究会, 2017 年 6 月 4 日.
- 近藤久義, 早田みどり, 横田賢一, 三根真理子, 中島正洋, 三浦史郎, 高村昇: 長崎市原爆被爆者の同時性重複癌罹患率に対する被爆距離の影響. 第 58 回原子爆弾後障害研究会, 2017 年 6 月 4 日.
- K. Satoh, H. Yasuda, H. Kawakami, Y. Takihara: Relative biological effectiveness of neutrons derived from the ERR model with the atomic bomb survivors data managed by Hiroshima University, NEUDOS-13 (NEUTRON AND ION DOSIMETRY SYMPOSIUM), Poland, 2017 年 5 月 14 日.

その他（特許申請, 新聞等広報, 受賞, 特記事項等）

特になし。

# 住民の行動データに基づく線量再構築における不確かさの 要因の洗い出しと定量化に関する研究

## 研究組織

拠点機関研究者：保田 浩志（広島大学原爆放射線医科学研究所：教授）

石川 徹夫（福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授）

## 研究目的

東京電力福島第一原子力発電所事故（以下「福島第一原発事故」）では、事故直後に取得された情報の乏しさから、福島県の県民健康調査の一環として行われている住民の行動データに基づく個人線量（内部被ばくを含む）の再構築には、大きな不確かさが伴っている。この不確かさの要因を洗い出すとともに、不確かさの幅（範囲）を調査する。

## 研究実施内容

福島第一原発事故により住民一人一人が受けた被ばく線量を精密に推定するうえでの問題点について協議した。将来に向けて検討すべき大きな課題として、1）事故直後の小児甲状腺被ばく測定、2）事故後数か月以降（復旧期）の内部被ばく測定および3）事故直後から4か月間の外部被ばく評価、における精度の向上を取り上げ、それぞれについて考察した。

1）に係る問題については、以下の事項が主要なものとして挙げられる。

- ・サーベイメータが用いられた甲状腺スクリーニングの測定精度の低さ
- ・測定を行う際の低バックグラウンド環境の確保
- ・甲状腺モニタリングを適切に行える専門家の不足
- ・放射性物質の環境放出・拡散予測における不確かさ

2）に係る問題については、以下の事項が主要なものとして挙げられる。

- ・ホールボディカウンタの品質のばらつき（較正方法等の違い）
- ・衣類や体表面における汚染の残存がもたらす測定誤差

3）に係る問題については、以下の事項が主要なものとして挙げられる。

- ・自記式回答による行動記録の曖昧さ
- ・線量低減／遮へい係数の建物による違い
- ・周辺線量等量率（モニタリングポストの値）から住民個人の実効線量率への換算に用いる係数の不確かさ

これらの問題の解決を図り緊急時線量評価の信頼性を高めることが、将来（国内に限らず）起こり得る大規模な放射線災害に適切に対応するために重要である。

## 今後の展望

これまでの考察結果を共同で論文にまとめると共に、これまで集団に対して評価されてきた線量を基本に個人線量を評価する場合に大きなウェイトを占める要因とそのパラメータ化について検討を行う。

## 発表論文

- 1) Yasuda, H.: Estimation of integrating cancer risk of female children attributing to radiocaesium in soil before returning to an evacuation zone. J. Radiat. Res., 2018, in press.

## 代表的な学会発表

- 1) Yasuda, H.: Decision making in return to the evacuation zone based on the integrating cancer risk. ICRP-ERPW, Oct 2018, Paris.

その他（特許申請，新聞等広報，受賞，特記事項等）

保田が国際放射線防護委員会（ICRP）より報告書作成への貢献に対して業績賞を授与された。

# 放射線災害発生直後の初期被ばくを正確に把握するために 必要な線量評価の体制構築に関する研究

## 研究組織

拠点研究者：保田 浩志（広島大学原爆放射線医科学研究所：教授）

松田 尚樹（長崎大学原爆後障害医療研究所：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）

## 研究目的

東京電力福島第一原子力発電所事故では、電力供給の停止や交通網の寸断等により、事故直後に系統的に取得された短半減期放射性核種（ヨウ素 131 やテルル 132 等）に関する実測データは非常に乏しく、そのことが今も多くの方が健康への影響に不安を抱く一因となっている。そこで本研究では、将来同様の問題が生じないように、放射線災害が発生した直後において、様々な制約のある状況と限られた人材で、住民各人が主要な短半減期放射性核種によって受ける被ばく線量を精緻に把握するためのモニタリング手法およびそれにより得られた実測データを迅速に施策に反映するための体制について検討し、社会に提示する。

## 研究実施内容

国連科学委員会（UNSCEAR）等の国際研究機関や国内の研究グループによる福島第一原発事故の影響評価において、環境中に放出された短半減期放射性核種による被ばく線量がどのような手法で推定されたかについてレビューした。それにより得られた知見を以下に列挙する。

- ・吸入による内部被ばく線量の推定においては、地表大気中の放射性核種濃度に、建物等による低減係数、呼吸率、粒子サイズ等がもたらす効果係数、吸入量から実効線量への換算係数を乗じることにより計算している。
- ・ある短半減期放射性核種の地表大気中濃度が不明な場合は、事故後数か月間に測定された放射性セシウムの地表沈着密度のデータを基に、別途評価された各放射性核種の放出量の時間変化（ソースターム）および核種による地表沈着率の違いを考慮して、事故初期における当該放射性核種の大気中濃度の推移を推定している。
- ・経口摂取による内部被ばく線量の推定においては、放射線核種の地表沈着密度に、地表から対象とする食品への移行係数、当該食品の摂取量および線量係数（摂取量から実効線量への換算係数）を乗じることにより計算している。
- ・ある短半減期放射性核種の地表沈着が不明な場合は、事故後数か月間に測定された放射性セシウムの地表沈着密度のデータを基に、別途評価された各放射性核種の放出量の比率および核種による地表沈着率の違いを考慮して、事故初期における当該放射性核種の大気中濃度の推移を推定している。
- ・地表に沈着した放射性核種からの外部被ばく線量は、モニタリングポストなどの実測値から導出した空気カーマ率に、建物などによる低減係数および空気カーマから実効線量への換算係数を乗じることにより計算している。
- ・ある短半減期放射性核種に由来する空気カーマ率が不明な場合は、大気輸送拡散モデルを用いたシミュレーション計算結果を基に、事故初期における評価対象エリアの線量率の時間変化を推定している。

これらの手法に潜在する問題として、放射性核種の放出量の推定精度が住民の被ばく線量の推定精度に直結している点が指摘できる。短半減期放射性核種の線量推定の多くは放射性セシウム（Cs-134 または Cs-137）の環境中濃度データを基礎としているが、それらと異なる族の放射性核種（例えばヨウ素、テルル、キセノンの同位体など）の挙動とは同じでないことは容易に推察され、原子炉や建屋などの状況によっては放出される核種の比や化学形態が時間的に大きく変化していたことも考えられる。

したがって、事故初期における短半減期核種を含む住民の被ばく線量を精度よく評価するには、対象核種の実測データをできる限り取得するよう努めると共に、対象核種と同じ挙動をすることが明らかな元素（例えば I-131 や I-133 に対しては I-129 など）に着目し、その環境中データを精緻に収集・解析することにより線量を再構築することが望ましい。さらに線量推計自体の社会心理学的な影響も考慮しつつ、住民の行動様式と合わせて推計可能かどうか検討する必要がある。

と思われる。

#### 今後の展望

これまでの考察結果を共同で論文にまとめると共に、これまで放射性セシウム推定放出量の比に基づいて評価されてきた短半減期放射性核種の線量について、環境中挙動の違いがもたらし得る不確かさについての解析を行う。

#### 発表論文

- 1) Yasuda H.: Estimation of integrating cancer risk of female children attributing to radiocaesium in soil before returning to an evacuation zone. J. Radiat. Res., 2018, in press.
- 2) Ishikawa T., Takahashi H., Yasumura S., Ohtsuru A., et.al. Representativeness of individual external doses estimated for one quarter of residents in the Fukushima Prefecture after the nuclear disaster: the Fukushima Health Management Survey. J Radiol Prot. 2017; 37:584-605.

#### 代表的な学会発表

- 1) Yasuda, H.: Decision making in return to the evacuation zone based on the integrating cancer risk. ICRP-ERPW, Oct 2018, Paris.

その他（特許申請，新聞等広報，受賞，特記事項等）

## 研究機関における原爆被ばく学術資料の基礎研究

### 研究組織

拠点機関研究者：高村 昇（長崎大学原爆後障害医療研究所：教授）  
久保田 明子（広島大学原爆放射線医科学研究所：助教）

### 研究目的

原爆被災・放射線災害の実相を伝え、様々な分野の研究資源となる学術資料群についての研究を行う。特に申請者（拠点機関研究者）の所属する長崎大学および広島大学に保存されている資料について、その所蔵状況や資料についての基礎的な研究を行う。この研究を行うことによって、より学術研究に資する学術資料の在り方を検討する。学術研究の社会に対するアウトリーチを行うことは、現在、科学者の責務の一つである。また、福島事故を経験した社会において、緊急被ばく医療・放射線医療の原点ともいえる原爆被災の資料をもって現在までの文脈を検討することは重要であると考えられる。

### 研究実施内容

当該研究の研究者の所属する機関において、多く存在する資料の一部について調査研究を実施するとともに、展示活動を行うなど社会への発信も行った。具体的には、2017年3月より広島大学原爆放射線医科学研究所で管理することとなった、鎌田七男広島大学名誉教授が同所に預けた近距離被爆者に関する医学記録等の資料を中心に、2017年8月～10月に広島大学医学部医学資料館において資料展示「爆心地から生きる」、また鎌田七男名誉教授による講演会を行った。展示については1000名を超える来場者を得るなど、好評を博した。また、2018年1月、福島県で行われたふくしま県民公開大学においては、福島の特に若い年齢層に向けて、復興をテーマとした「忘れないけれど、ずっと「特別」でもない」と題したポスター発表を行った。本報告は、原爆後の1960年代以降、復興に立ち向かっていった社会の活動とそれに連携した広島大学原爆放射線医科学研究所の学術研究プロジェクトの資料展示について示した。そのなかで、原発と原爆は全く別物であるが、突然の大災害の経験、深刻な放射線災害からの道のりに、福島の問題を乗り越えるヒントがあるのではないかと、この提言を行った。このように、時間を経たからこそできる、科学研究についての社会へのアウトリーチ活動を積極的に実施した。

### 今後の展望

次年度も、本年度の方針・活動を継続していく。また、特に本年度は、科学研究の社会へのアウトリーチの重要性を痛感した。そのため、そういった点にも留意していきたいと考える。本研究は医学研究機関に軸を置く、現代的な科学研究組織の研究活動の1つではあるが、その組織の主たる目的に直接つながる純粋な科学研究ではない。しかしながら、そういった主要研究の由来・経緯・文脈（コンテクスト）を明らかにし、社会へ向けて発信することを行うことを目指す研究としたい。

### 発表論文

久保田明子（2018）「資料展示「爆心地から生きる」及び講演会「原爆を生き抜いた78人の足跡（報告）」『放射線災害・医科学研究拠点ニューズレター』第3号，2018年2月，4－6ページ，所収

久保田明子（2018）「『キツネの足跡』を迫りかける——京都大学所蔵荒勝文策関連資料について」政池明『荒勝文策と原子核物理学の黎明』京都大学学術出版会，2018年3月，379-398頁，所収

### 学会発表

久保田明子・杉原清香・原憲行・松井恵美子・田代聡「初期の被爆者調査とデータ整備」第2回 放射線災害・医科学研究拠点カンファレンス（2017年6月3日，広島大学）

久保田明子・杉原清香・田代聡「蜂谷道彦『ヒロシマ日記』から見る原爆医学研究の様相：放射線影響研究所所蔵資



料と広島大学所蔵資料を中心に」第58回 原子爆弾後障害研究会（主催 広島原爆障害対策協議会）（2017年6月4日，広島国際会議場）

久保田明子「医の史料はだれのものか：医療史アーカイブの現場から」2017年度 立教大学史学会大会（2017年6月24日，立教大学）

久保田明子・杉原清香・田代聡「放射線災害時における医学者・研究機関と社会の関係：蜂谷道彦『ヒロシマ日記』からみる原爆被災時の一例」第42回 中国地区放射線影響研究会（2017年7月27日，広島大学）

久保田明子「研究機関アーカイブズ資料展示について：名古屋大学・広島大学原医研・RERF」2017年度 第1回 自然科学系アーカイブズ研究会（2017年8月8日・9日，国立科学博物館筑波地区・高エネルギー加速器研究機構）

久保田明子「学術研究は災害や復興に役に立つのか？～原爆からの広島の復興を振り返って」第26回日本組織適合性学会大会 市民公開講座「激甚災害におけるアカデミアの連携と地域復興」（2017年10月29日，JMS アステールプラザ）

久保田明子「相原秀二資料と日映映像資料：基礎調査報告」広島平和記念資料館資料調査研究会（2017年11月25日，広島平和記念資料館）

久保田明子「資料所蔵機関の資料による様々な寄与の可能性～原爆関連資料をめぐる最近の経験から～」2017年度第2回自然科学系アーカイブズ研究会（2017年12月4日～5日，核融合科学研究所）

Kaori Iida, Akiko Kubota, “The ABCC’s research and public relations: Historical analysis of papers preserved in archives. (ポスター報告)” 第2回国際シンポジウム「For the Establishment of the Science of Resilience (復興学の確立に向けて)」，2018年2月3日，4日（長崎大学）

久保田明子「九州大学精神科診療録のアーカイブズ整備について」九州大学精神科神経科所蔵アーカイブズに関連する研究会議（2018年2月20日，慶応義塾大学）

#### その他（特許申請，新聞等広報，受賞，特記事項等）

##### 〔社会的活動〕

資料展示「爆心地から生きる」（2017年8月4日～10月19日，広島大学医学部医学資料館）企画・作成・運営

放射線影響研究所オープン・ハウス特別展示「スクラップは語る～世界へ届いた『ヒロシマ日記』」（2017年8月5日，6日）展示企画・作成および講演会

講演会「原爆を生き抜いた78人の足跡（鎌田七男広島大学名誉教授講演会）」（2017年9月2日，広島平和記念資料館）企画・作成・運営

久保田明子「忘れないけれど，ずっと「特別」でもない」（ポスター報告）」ふくしま県民公開大学（2018年1月20日，福島県民文化センター）

##### 〔新聞取材〕

「『ヒロシマ日記』英語版 米で反響 広島・放影研，記事や書評公開へ」『山陽新聞』2017年8月1日

「原爆死の解剖記録 克明 広島壊滅直後の19例 広島大に現存」『中国新聞』2017年8月5日

「世界の「ヒロシマ日記」，スクラップ帳は語る 放影研，来月5，6日展示」『朝日新聞』2017年8月5日

「広島原爆 きょう72年 8か月後の息吹」『毎日新聞』2017年8月6日

「放影研 蜂谷医師「ヒロシマ日記」反響 海外スクラップ初公開 きょうまで」『毎日新聞』2017年8月6日

「被爆臓器試料 デジタル化 長崎大 組織片スライド7万枚＝長崎」『読売新聞』2018年8月18日

「研究会：被爆の実相解明に 原医研・久保田助教，記録映画の背景講演 制作・相原氏のノートなど紹介 原爆資料館／広島」『毎日新聞』2017年12月6日

「米軍，半数以上持ち去りかへ見つかった被爆者資料」『京都新聞』2018年1月18日

「被爆者調査員 写した実像 京大医師ら 写真と日記展示 平和記念資料館」『読売新聞』2018年3月30日

「被爆者の姿 克明に 写真や診察日記 平和資料館 惨禍語る展示＝広島」『読売新聞』2018年3月31日

[テレビ制作協力]

「爆心地を語る ～78人の証言テープ～」『テレメンタリー 2017』（テレビ朝日，2017年7月31日放送）（本番組は2017年第55回ギャラクシー賞上期テレビ部門奨励賞を受賞した）

「追跡！原爆影響報告書 ～隠された安田高女の記録～」『テレメンタリー 2017』（テレビ朝日，2017年8月6日放送）

## Addressing health consequences after nuclear power plant accidents: critical reviews and proposals

### 研究組織

拠点機関研究者：谷川 攻一（福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター：教授）

神谷 研二（広島大学原爆放射線医科学研究所：特任教授）

高村 昇（長崎大学原爆後障害医療研究所：教授）

協力者：大葉 隆（福島県立医科大学：助教）

### 研究目的

これまでの原子力発電所事故対応は放射線による直接的な健康影響の低減を焦点として整備されてきた。一方、福島原発事故は、発生する医療ニーズのほとんどが通常の医療やメンタルサポート、そして公衆衛生上の健康問題であるということを明らかにした。そこで、原子力事故や他の災害後における被災者の健康調査及び関連するコミュニケーションに資する一連の勧告を策定することを目的として、2015年12月にEU-OPERRA SHAMISEN（Open Project for the European Radiation Research Area, Nuclear Emergency Situations - Improvement of dosimetric, Medical And Health Surveillance）プロジェクトが開始された。我々は放射線災害医科学研究拠点として2015年、2016年はSHAMISENプロジェクトに参画し、2017年からはトライアングルプロジェクトとしてその成果をまとめることとした。

本研究の目的は、今後の原子力事故対策を整備する上で、スリーマイル島やチェルノブイリ事故も含めてこれまでの原子力発電所事故について科学的に検証し、事故発生初期、急性期そして中長期それぞれのフェーズにおける各健康影響を解析することである。その結果に基づいて、包括的な健康影響低減を目的とした原子力事故後の医療対応に関する提言を作成する。

### 研究実施内容

表1のタスクに分け、1）ガイドライン、および放射線線量スクリーニング、避難、健康調査そしてこうした状況への対応など過去の放射線緊急の経験に関するレビュー、2）現在放射線事象や事故により影響を受けている人々の生活および社会環境に関するレビューを行い、その結果に基づいて将来の放射線緊急により影響を受ける人々のための事前準備、スクリーニング、調査そして医学的フォローアップに関する勧告と手続きを作成した。その成果は「放射線事故への備えと、その影響を受けた人々の健康調査に関する勧告及び施策」として、放射線災害への準備や事故初期～中期の対応、被災者への健康調査への改善、復興期の取り組みなど28の提案を勧告書にまとめた。

| サブタスク | サブタスクリーダー    | 短いタイトル                        | 全タイトル                                                                                           | A    | 作業                                                                                 | 作業リーダー   |
|-------|--------------|-------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|------|------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| ST1   | CREAL        | 線量および健康スクリーニング、避難そして健康調査からの教訓 | ガイドライン、および放射線線量スクリーニング、避難、健康調査そしてこうした状況への対応など過去の放射線緊急の経験に関するレビュー                                | 1.1  | 生物学的線量評価やフォローアップを含む線量スクリーニングに関する既存の国際的な勧告、および被ばくした可能性のある人々への医療対応についての客観的(批評的)なレビュー | ISS      |
|       |              |                               |                                                                                                 | 1.2  | 避難に関するガイドラインおよび起こりうる健康影響に関する客観的(批評的)なレビュー                                          | FMU      |
|       |              |                               |                                                                                                 | 1.3  | 長期的な医学的調査(受動的なフォローアップ、甲状腺スクリーニング、メンタルヘルスそしてライフスタイル研究を含む)の成果および課題についての客観的(批評的)なレビュー | IARC     |
|       |              |                               |                                                                                                 | 1.4  | 放射線緊急事態における放射線リスクに関する疫学調査および生物学的調査から得られた経験についての客観的(批評的)なレビュー                       | CREAL    |
| ST2   | CEPN         | 汚染地域における生活環境と健康状態から学ぶ教訓       | 現在放射線事故や事故により影響を受けている人々の生活および社会環境に関するレビュー - 影響を受けている人々ニーズと、要望の把握 - 結果として影響を受けた地域における健康調査システムの改定 | 2.1  | チェルノブイリの放射性沈降物に関連してノルウェイのSámi地区住民へ与えた影響経験                                          | NRPA     |
|       |              |                               |                                                                                                 | 2.2  | 他の放射線緊急(社会あるいは精神的影響を例として)                                                          | WIV-ISP  |
|       |              |                               |                                                                                                 | 2.3  | チェルノブイリ事故後に実行されたベラルーシ、ロシア、ウクライナでの活動についてのレビュー                                       | CEPN     |
|       |              |                               |                                                                                                 | 2.4  | 日本の福島原発事故後に実行された現在の活動についてのレビュー                                                     | CEPN/FMU |
|       |              |                               |                                                                                                 | 2.5  | 緊急事態とその後の復旧における倫理的および社会的影響                                                         | NMBU     |
| ST3   | NMBU         | 事故後対応および健康フォローアップにおける事前準備と改善  | 将来の放射線緊急により影響を受ける人々のための事前準備、スクリーニング、調査そして医学的フォローアップに関する推奨と手続きの作成                                | 3.1  | 緊急事態の早期における放射線曝露の可能性のある人々の線量評価と医学的スクリーニングを含んだ準備と対応についての推奨                          | ISS      |
|       |              |                               |                                                                                                 | 3.2  | 避難する人々の医学的状态と彼らを受け入れる施設の事前準備とを考慮に入れた避難に関する推奨                                       | FMU      |
|       |              |                               |                                                                                                 | 3.3  | 個人(または家族単位で)および社会レベルで地域住民の健康影響に対応し、そして彼らの生活状況の改善を目的とした健康調査プログラムをデザインする             | NMBU     |
|       |              |                               |                                                                                                 | 3.4  | コミュニケーション手段およびプライマリケアに焦点をあてた初期対応医師や看護師へのメンタルヘルス研修を含む人々への支援に関する推奨                   | FMU?     |
|       |              |                               |                                                                                                 | 3.5  | 事前と事故後の疫学調査に関する推奨                                                                  | IRSN     |
| ST4   | NERIS<br>NEW | 管理                            |                                                                                                 | CCA1 | 利害関係者の役割                                                                           | NERIS    |
|       | CREAL        |                               |                                                                                                 | CCA2 | 健康調査システムの経済的影響                                                                     | NEW      |
|       |              |                               |                                                                                                 | 4.1  | プロジェクトの管理と調整                                                                       | CREAL    |

表1 SHAMISEN プロジェクトにおけるタスク分類と検討内容

## 今後の展望

2015年から参画したSHAMISEN研究では放射線事故後において個人線量計や放射線測定器を使用し、住民自らが線量測定に参加することにより、その結果の解釈や理解が促進されることが明らかとなった。そこで、今後の研究では避難指示が解除された地域に帰還している住民を対象として、放射線測定デバイスや健康チェックアプリなどの最新のテクノロジーを住民が主体的に活用することにより、地域のメディエーターや保健関係者に情報提供し、彼らとのダイアログを通じて、住民自らによる調査を支援する手法を開発する。そして、健康調査や研究に住民が主体的に参加することにより、その結果の解釈や受容を促進することが可能か、検証する。

## 発表論文

1. Tanigawa K. Medical and Health Surveillance in Post-accident Recovery: Experience after Fukushima. Annals of the ICRP, in press
2. 大葉 隆. 放射線災害への準備と対応～EUのSHAMISENプロジェクトを通して～, 放射線災害・医科学研究拠点ニュースレター, 2017Vo3, 14-17, 2018
3. 大葉 隆. ヨーロッパにおける放射線災害への準備と対応に関する取り組み, 日本放射線技術学会 放射線防護部会会誌, 43, 45-48, 2016.

## 学会発表

## 国内学会報告

1. 大葉 隆, 熊谷 敦史, 宮崎 真, 黒田 佑次郎, 前田 正治, 大津留 晶, 安村 誠司, 谷川 攻一, Elisabeth Cardis. 原子力災害への準備と対応への考察～EUのSHAMISENプロジェクトより～. 第88回日本衛生学会学術大会, 東京都, 2018年3月22日～24日.
2. 大葉 隆, 熊谷敦史, 宮崎真, 黒田佑次郎, 前田正治, 大津留晶, 安村 誠司, 谷川攻一, Elisabeth Cardis. 原子力災害への国際的な考え方～EUのSHAMISENプロジェクトを通して～. 平成29年度福島県放射線技師会学術大会, 福島市, 2017年11月19日.
3. 大葉 隆. 「放射線災害とその対応」. 公開シンポジウム\_放射線健康リスク科学分野を支えるメディカルスタッフ事故対応とヒューマンファクター. つくば市, 2017年11月3日.
4. 大葉 隆. 「放射線災害への対応」 ～その取り組むべきポイントとは～. 第45回日本放射線技術学会秋季学術大会, 広島市, 2017年10月20日.

## 国際学会報告

1. Ohba T, Tanigawa K, Liutsko L, Cardis E. Evacuation after a Nuclear Accident: Critical Reviews of Past Nuclear Accidents and Proposal for Future Planning based on Recommendations of the SHAMISEN Project, The 2nd International Symposium of the Network-type Joint Usage/Research Center for Radiation Disaster Medical Science 2018, Nagasaki, Japan, 2-3 February, 2018.
2. Cardis E, Oughton D, Liutsko L, Ohba T, Sarukhan A. SHAMISEN Recommendations and procedures for preparedness and health surveillance of populations affected by a radiation accident, ICRP-ERPW 2017; Paris, France, 10-12 October, 2017.
3. Tanigawa K. Medical and Health Surveillance in Post-Accident Recovery: lessons learned in Fukushima, ICRP-ERPW 2017; Paris, France, 10-12 October, 2017.
4. Fattibene P, Barquinero F, Monaca S, Liutsko L, Akahane K, Barrios L, Bassinet C, Vathaire C, Chumak V, Franck D, Gregoire E, Jaworska A, Kamiya K, Kumagai A, Kurihara O, Kulka U, Nuccetelli C, Oestreicher U, Ohba T, Peter M, Poelzl-Viol C, Tanigawa K, Trompier F, Cardis E. Dose to individuals as a basis for decision-making in supporting health follow up and resilience of affected population after a nuclear accident: Recommendations from the SHAMISEN project, ICRP-ERPW 2017; Paris, France, 10-12 October, 2017.
5. Ohba T, Tanigawa K, Liutsko L, Cardis E. Evacuation after a nuclear accident: critical reviews of past nuclear accidents and proposal for future planning based on recommendations of the SHAMISEN project, ICRP-ERPW 2017; Paris, France, 10-12 October, 2017.
6. Liutsko L, Ohba T, Tanigawa K, Cardis E. Individual and historico-societal factors influencing decision-making processes related to RP behavior in post-accidental period, RICOMET 2017: Social and ethical aspects of decision-making in radiological risk situations, Vienna, Austria, 27-29 June, 2017.
7. Fattibene P, Barquinero JF, Chumak V, Monaca SD, Nuccetelli C, Vathaire CC, Gregoire E, Frank D, Trompier F, Bassinet C, Poelzl-Viol C, Kulka U, Oestreicher U, Peter M, Jaworska A, Akahane K, Kurihara O, Liutsko L, Kamiya K, Tanigawa K, Kumagai A, Ohba T, Barrios L, Cardis E. The radiation measurements and the involvement of the population: LESSONS from the Chernobyl and Fukushima accidents: results of the SHAMISEN project, RICOMET 2017: Social and ethical aspects of decision-making in radiological risk situations, Vienna, Austria, 27-29 June, 2017.
8. Liutsko L, Ohba T, Cléro E, Crouail P, Kesminiene A, Laurier D, Maître M, Motreff V, Ostroumova E, Oughton D, Pirard P, Rogel A, Sarukhan A, Schneider T, Tanigawa K, Tomkiv Y, Albani V, Vale L, Cardis E. The SHAMISEN project: from LESSONS learnt from the past nuclear accidents to important of preparedness of post-accident response on medical and health issues (Recommendations), RICOMET 2017: Social and ethical aspects of decision-

making in radiological risk situations, Vienna, Austria, 27-29 June, 2017

9. Liutsko L, Oughton D, Scheider T, Ohba T, Cardis E. Optimising lessons from past radiation accidents for health surveillance in case of future accidents (Chernobyl, Fukushima), Radiation Protection Week 2016, Oxford, United Kingdom, 19-23 September, 2016.

その他（特許申請，新聞等広報，受賞，特記事項等）

特になし





## 《付 録》



## トライアングルプロジェクトについて

放射線災害・医科学研究拠点では、放射線災害医療に関連する学術領域のボトムアップを図る目的で、全国の研究者からの共同研究、機器利用の募集を行ってきた。しかし、本学術領域のさらなる発展のためには、このようなボトムアップ型の研究プロジェクトとともに、3拠点研究機関が構築するネットワーク型研究拠点の強みを生かしたトップダウン型プロジェクトを推進する必要がある。

3拠点研究機関では、広島大原医研が基礎的な放射線生物学、長崎大原研は甲状腺がん研究や国際的なフィールドワークを中心に、原爆、原子力災害についての独自の研究、そして福島医大ふくしま国際医療科学センターは福島第一原発事故被災地域をフィールドとした研究を進めてきている。これらの研究の中には3拠点研究機関の協力により、研究の質と量を向上させることが可能な研究プロジェクトが存在する。そこで、これまで独自に進めてきたこれらの研究プロジェクトを、以下の3つのテーマについて3拠点研究機関で連携して推進するトップダウン型プロジェクト「トライアングルプロジェクト」として開始することとした。

### テーマ1) 低線量被ばく影響とリスク研究

キーワード：甲状腺がん、分子疫学、放射線リスク評価・管理、動物実験系、細胞実験系、ゲノム変異、応答修復学、ゲノム医学

### テーマ2) 放射線障害医療

キーワード：再生医療、放射線医療副作用・軽減、災害医療被ばく者腫瘍、被ばく者医療

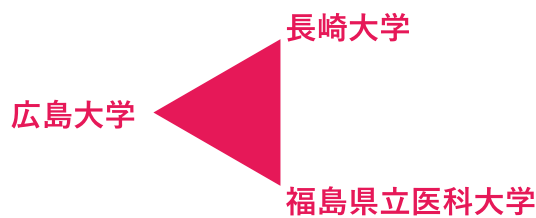
### テーマ3) 放射線災害の社会影響と放射線防護

キーワード：リスクコミュニケーション、疫学、放射線防護線量評価

各プロジェクトでは、3拠点研究機関のうち2以上の拠点研究機関に所属する研究者（教授、准教授、講師及び助教）が融合した研究チームを創出し、放射線災害・医科学研究に積極的に取り組む活動を支援する。プロジェクトの調整は、それぞれのテーマについての専門家が構成するコーディネーター会議が行い、拠点本部会議で最終的なプロジェクトを決定した。平成29年度は、テーマ1として9プロジェクト、テーマ2として10プロジェクト、テーマ3として6プロジェクトの合計25プロジェクトをトライアングルプロジェクトとして推進した。

## トライアングルプロジェクト

3 拠点研究機関が、  
構築するネットワーク型研究拠点の強みを  
生かしたトップダウン型プロジェクト



### テーマ 1 低線量被ばく影響とリスク研究

甲状腺がん、分子疫学、放射線リスク評価・管理、  
動物実験系、細胞実験系、ゲノム変異、応答修復学、ゲノム医学

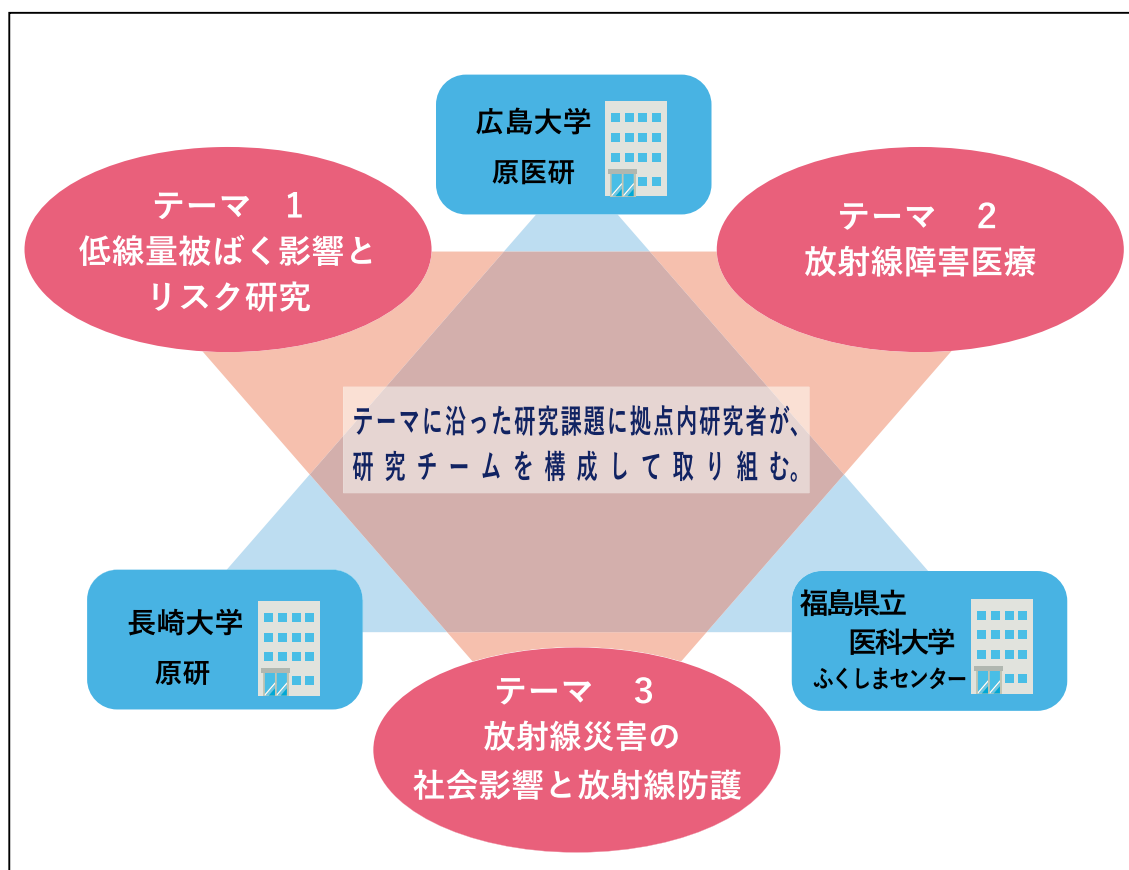
### テーマ 2 放射線障害医療

再生医療、放射線医療副作用・軽減、災害医療、  
被ばく者腫瘍、被ばく者医療

### テーマ 3 放射線災害の社会影響と放射線防護

リスクコミュニケーション、疫学、  
放射線防護、線量評価

トライアングルプロジェクトの実施により、放射線災害・医科学研究の基礎となる拠点研究機関のネットワークが強化でき、  
わが国の放射線に関連する学術研究の発展に貢献できる。



平成29年度  
共同利用・共同研究課題  
トライアングルプロジェクト  
研究成果報告集

---

|      |               |
|------|---------------|
| 発行   | 平成30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   |

---



