

<特集「放射線と健康」>

低線量放射線の遺伝子構造，遺伝子発現への影響

小 野 哲 也*

東北大学大学院医学系研究科ゲノム生物学分野

Effects of Low Dose Radiation on Gene Structure and Gene Expression

Tetsuya Ono

*Division of Genome and Radiation Biology, Department of Cell Biology,
Graduate School of Medicine, Tohoku University*

抄 録

高線量放射線の生体影響については過去 100 年の研究からその概要が解明され、一部の線量域については骨髓移植などの治療法まで開発されている。しかしながら低線量放射線の影響については非常に限られた研究しかなく、しかもその多くは影響の度合いが少ないために個々の生体のもつ多様性に伴うばらつきや測定精度の問題と直面することになり明解な結論を得られるにはほど遠いのが現状である。本稿ではこの辺の事情を概説すると同時に、著者が最近関与している低線量率放射線長期曝露マウスの分子レベルでの解析結果について紹介する。

キーワード：低線量放射線，マウス，染色体異常，遺伝子突然変異，mRNA，マイクロアレイ解析，蛋白質。

Abstract

Biological responses to high dose radiation have been elucidated by the past 100 years-long studies. In the limited dose range, radiation induced death can be prevented by bone marrow transplantation. However, when the dose of radiation becomes smaller, the responses become obscure because they are subtle and require large scale investigations and/or extremely sensitive detection methods to elicit significant data. Thus, the studies of low dose radiation effects are quite limited. In this review, I will describe the current status of our general understanding and also introduce the data we have obtained lately from the mice irradiated continuously for about a year at low-dose-rate.

Key Words: Low dose radiation, Mouse, Chromosome abnormality, Gene mutation, mRNA, Microarray analysis, Protein.

平成23年 9 月30日受付

*連絡先 小野哲也 〒980-8575 仙台市青葉区星陵町2-1

tono@med.tohoku.ac.jp

開示すべき潜在的利益相反状態はない。

はじめに

1895年のレントゲンによるX線の発見は放射線の特性の解析とその特性を利用したいろいろな分野での幅広い応用につながり、もはや放射線は現代社会に不可欠なもののひとつになっている。具体的には放射線の人体や物質に対する高い透過性を利用して内部を可視化することや、原子、分子を破壊する能力を利用して新しい素材の開発や殺菌消毒、癌の治療さらには人を殺す兵器などに使われている。これらの利用が広がるのと平行して放射線のもつ人体への毒性の理解も進み、4~5 Sv以上の全身被曝で死亡することや1 Svの被曝ではほぼ10%癌死が増加すること、癌の原因としては染色体異常や突然変異の増加が関与していることなどが分かっている。しかし宇宙船に長期滞在した時に

受ける数100 mSv/yr やさまざまな診断に伴う数 mSv レベルの被曝のリスクなど低線量域の放射線に対する生体の反応はよく分かっていないのが実態である(図1)。とはいえ放射線の利用が広く進む中で被曝に対する何らかの規制をかけないと国民の健康が損なわれかねないので、予想されるリスクを推測しそれに基づいて「線量限度」が設定されている。放射線作業従事者に対しては20 mSv/yr、一般公衆に対しては1 mSv/yrである。福島原発事故のような緊急事態には一時的な措置として線量限度をあげることも容認されている。

このような線量限度が設定された根拠は放射線による生体影響のうち、癌や寿命短縮といった影響が線量との間に直線的な関係を示すという linear non-threshold model (閾値なし直線仮説)を仮定していることにある(図2)¹²⁾。この

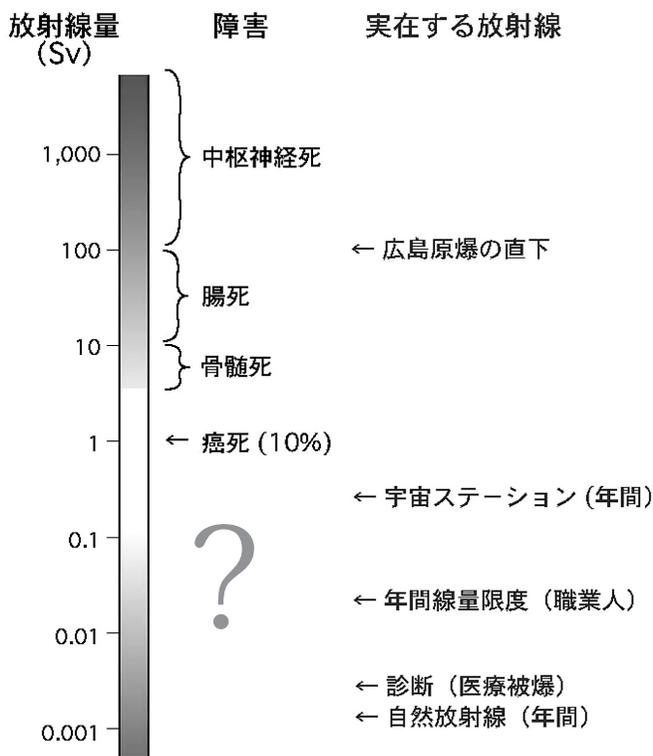


図1. 放射線障害と実在する放射線の相関を線量レベルを基準に比較した概観図。

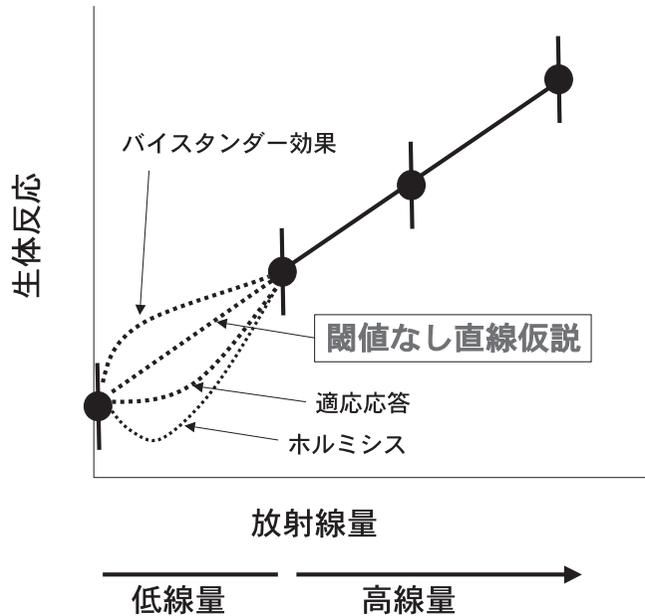


図2. 放射線量と生体反応の線量効果関係を模式的に示した図. 低線量領域の放射線に対する生体反応はよくは分かっていないので、直線的な外挿 (linear non-threshold model) が適切と考えられている。これに基づいて放射線の被曝線量限度が導かれている。

仮説に対しては、低線量域の放射線に対する生体の特殊な反応があるので正しくないという意見もある。具体的には、被曝した細胞が毒性のある物質を放出して周りの被曝していない細胞に障害を与えるバイスタンダー効果、一度被曝した細胞が次に被曝する事態に対処できるよう抵抗性を獲得する適応応答反応、適応応答が強く働いて放射線以外の一般的なストレスに対しても抵抗性になるホルミシス効果などである³⁾。現時点では個体レベルでどの反応がどれ程重要かは分かっていないが、多くの研究者は線量効果関係が直線であろうと考えるのが合理的な推測であるとして受け入れている。この仮説から演繹されることは、どのように少ない線量でもそれに比例したリスクが生じるということである。放射線作業従事者は他の職業と同じレベルのリスクを負うものと考え 20 mSv/yr という値が出され、一般公衆については交通事故などの通常リスクとの比較、自然放射線のレベルなどを勘案して 1 mSv/yr の値が設定されている⁴⁾。

ここからも分かるように、低線量放射線による生体への影響はそれほど多くはないものの、あくまで推測されたものにすぎない。この問題を根本的に解釈するためには、実際に低線量の放射線に対し生体がどれほどの反応を示すかを明らかにする必要がある。

低線量率放射線長期被曝の影響

低線量放射線は診断の時のようにこれを短い時間内に被曝する場合と環境が汚染された時のように長期間をかけて低線量率で被曝する時があるので、それぞれについて検討する必要がある。何故なら、高線量率放射線の生体影響は低線量率放射線のそれより高いことが分かっているからである。その差は多くの指標で 2~3 倍である。いずれにせよ低線量放射線の影響は少ないので多数の検体を調べるとか高い精度の検出系を用いることが必須であり、多くの費用、マンパワー、時間が要求される。このような事情から低線量放射線に対する生体影響の研究は

世界的にも非常に少ないのが現状である。そのような中で日本では1990年、青森県に環境科学技術研究所が作られ、そこではマウスをSPF (specific pathogen free) 下で400日間ガンマ線を連続照射する設備があり、総線量で20 mGy (=20 mSv), 400 mGy, 8000 mGyを曝露することができる。GyとSvはX線、ガンマ線、電子線については同じ値となる。20 mGyは放射線作業従事者の年間線量限度であり、400 mGyはほぼ宇宙船での被曝量に相当する。この条件下で1群1000匹のマウスを用いて調べられた結果、8000 mGyでは寿命の短縮と癌発生の早期化が、400 mGyでは雌でのみわずかな寿命短縮が観察されている。ただし20 mGy/minでは何の影響も見られていない⁵⁶⁾。

我々は5つの研究グループからなる共同研究を立ち上げ、同じ条件下で照射されたマウスに分子レベルでの変化が見出せないかどうかを検討した。指標として用いたのは脾細胞での染色体異常；肝臓、脾臓、小腸上皮での遺伝子突然変異；肝臓、腎臓、精巣でのmRNAの量の変化；肝臓での蛋白質の変化である。mRNAはマイクロアレイを用い、また蛋白質は二次元電気泳動を用いて網羅的な解析を行った。その結果、染色体異常と突然変異については8000 mGyでは誘発がみられるものの400 mGy, 20 mGyでは有意な増加はみられなかった⁷⁸⁾。mRNAと蛋白の変化については8000 mGyと400 mGyの照射で変化がみられ、肝臓のmRNA

の変化の一部は20 mGyでも見出された(表1)。

次に変化のみられる蛋白質とmRNAの特徴を調べると、肝臓で変化する蛋白質のひとつはミトコンドリアに存在するrhodaneseという蛋白であり、解毒作用のあることが示唆されているものであった⁹⁾。被曝したマウスで増加していたことから、一種の抵抗力増強につながる反応かと考えられる。変化するmRNAから推測された生体機能は肝臓では脂肪や糖の代謝¹⁰⁾、腎臓ではミトコンドリアの酸化的リン酸化¹¹⁾、精巣ではDNA代謝¹¹⁾などであった。

さらに、肝臓で変化している一群のmRNAをコードする遺伝子のプロモータ部分のDNA配列を調べて共通にみられるものはないかどうかを解析するとグルココルチコイド受容体(GR)やforkhead box protein Q1 (FOXQ1)等いくつかの転写因子の結合配列が比較的高頻度に見出されることも分かった(表2)¹²⁾。これらは、低線量放射線がどのようにして一部の遺伝子の活性を変えるのかを知る手がかりとなるが、まだその姿がみえる所までには到っていない。因に表2の中でGRとSREBP-1は炭水化物、脂肪、脂肪酸の代謝に関与していることが知られている。

これらの結果から、低線量率放射線を長期被曝した時の影響としては遺伝子変異やゲノムの構造の異常よりも遺伝子発現の調節の変化が重要であると思われる。ただし遺伝子発現の変化は一過性に起るものと長期間持続するエピジェ

表1. 低線量率の放射線を400日間連続照射したマウスで見出される分子変化。染色体異常や突然変異といったゲノムの構造変化よりもmRNAや蛋白質の量の変化の方がより低い線量でも見出される。

指標	総線量	20 mGy	400 mGy	8,000 mGy
染色体異常 (脾臓)		—	±	+++
red・gam突然変異 (脾臓、肝臓)		—	—	+
Dlb1突然変異 (小腸幹細胞)		—	—	+
mRNA (肝臓、腎臓、睾丸)		+	+	+
蛋白質 (肝臓)		—	+	+

表2. 低線量率長期照射したマウスの肝臓で変化のみられる mRNA の遺伝子上流部分に高頻度に見出される DNA 配列へ結合する転写因子とそれに関連する生体機能.

転写因子	名前	関与する機能
FoxQ1 (HFH-1)	forkhead box protein Q1	発生、分化、寿命、 細胞周期制御
Gr	glucocorticoid receptor	炭水化物、脂質、 蛋白質の代謝、免疫反応
Ap-1	activator protein 1	外界変化への対応、 細胞増殖、アポトーシス
Srebp-1	sterol regulatory element-binding protein 1	脂肪酸代謝、インスリン への反応
Olf	olfactory neuron-specific factor	—

ネティックなものがあり、放射線による発癌や寿命短縮という長期的な影響の原因を探る上では、エピジェネティックな変化がより重要と考えられる。従って上記でみられた変化が照射後経時的にどう変化するかをさらに追跡する必要がある。

分子レベルでの変化と機能変化の乖離

上記解析を通じて低線量率放射線照射が遺伝子発現の変化をもたらすことが分かってきたが、このデータの解釈については注意が必要である。それは分子レベルでの変化が即生体機能の変化にはつながらないこともあるからである。例えば、生体内の分子反応では2段階以上の変化があつて始めて機能変化が生じる場合が多くあり、そのような場合は1段階での変化は機能変化には結びつかないことになる。最近米国の Lowe たちは 0.1 Gy という少ない線量の放射線を照射したマウスの脳を調べるとヒトのアルツハイマー病でみられている mRNA の変化と同じような変化が多数検出されると報告して注目を集めた¹³⁾。ただし、0.1 Gy の放射線がアルツハイマー病かあるいはそれに類似した症状を引き起こすというデータはヒトでもマウスでもみられていない。従って分子の変化が表現形の変化と同義ではないことを示唆している。も

う一つの例を紹介すると、中国の自然放射線の高い地域での健康調査と染色体異常調査の結果がある。広東省陽江市には自然放射線量が周囲より数倍高い地域があり、この住民の癌死亡率、全死亡率が日中の研究チームによって解析された結果、どちらの指標でも周りと差のないことが明らかにされている¹⁴⁾¹⁵⁾。ただし同時に解析された血中リンパ球の染色体異常頻度では自然放射線量の違いが明白に反映されており、高い地域では約2倍の増加がみられている¹⁶⁾。

いずれにしても分子の変化が必ずしも機能の変化を意味する訳ではないことをおさえておくことが大切である。

自然放射線のレベルは 1~10 mSv/年

低線量放射線の影響を考える時、線量の下限がどの辺かはいつも気になる所である。ICRP などの国際機関も日本政府も一般公衆への線量限度として 1 mSv/yr を採用しているが、これはあくまで被曝の可能性に対する規制上の「限度」であつて放射線の影響があるかないかの境界を示している訳ではない。世界の自然放射線のレベルは特別に高い所を除けば 1~10 mSv/yr であり、日本では 1~2 mSv/yr である (表3)。ここでのばらつきの主な原因は放射性ラドン量の違いに依存する。従って数 10 mSv/yr 以下の放

表3. 世界と日本で調べられた自然放射線量とそのばらつき. 地中から放出されるラドン量の違いがばらつきの主な原因となっている.

由来	世界平均 (範囲) ²¹⁾	日本平均 (範囲)
宇宙線	0.39 (0.3-1.0)	0.29 (0.23-0.33) ²²⁾
大地	0.48 (0.3-0.6)	0.38 (0.23-1.19) ²³⁾
ラドン	1.26 (0.2-10.0)	0.40 (0.38-1.33) ²⁴⁾
食物	0.29 (0.2-0.8)	0.41 (0.35-0.80) ²³⁾
合計	2.4 (1-11)	1.5 (1.3-2.4) ²³⁾

射線の影響を解析する時はその地点でのラドンも含めた自然放射線量を測定してから行わなければならないことになる。しかし、このレベルの生体影響を実際に解析するのはかなりの困難が予想される。

今後の展望

低線量あるいは低線量率放射線の生体影響研究はこれから追求されるべき大きな課題といていいだろう。方法論としては線量効果関係を地道に着実に解析してゆく以外にない。さらにもうひとつ大切な研究の方向は被曝後何らかの処置をすることで発癌や寿命短縮の発症を抑える方法を開発すること、あるいは癌の治療効果を格段にあげて、癌のほとんどが治療可能な状況にすることである。前者についてはマウス、ラットのデータしかないが、被曝後カロリー制限 (-30 ~ -40%) を行ってやると癌の発生が数分の1から1/10に低下することが報告されており¹⁷⁻¹⁹⁾、最近の我々の解析では加齢に伴う突然変異蓄積がカロリー制限で抑制されることも分かっている²⁰⁾。従ってカロリー制限と同じような効果を引き出す薬剤が開発されれば、もし事故による被曝が生じて事後処理によって癌や寿命短縮を抑えることができるようになる。ま

た癌の治療成績の格段の上昇については、今でも多くの癌で早期発見されれば90%以上の治療率になっており、癌が「恐ろしい病気」ではなくなるまでにそれほど長い期間を要しないのではないかと推測される。これらの進展によって初めて人類が放射線を真に安全に扱える時代となるのであろう。

まとめ

放射線の利用を続ける限り低線量放射線のリスクを明らかにすることは必須であり、そのためには現状のように推測に依存するのではなく科学的な解析と根拠に基づいた理解が不可欠であろう。今後の大きな研究課題である。他方、医学と生命科学の進展によってこれまでは無理と考えられていた治療法の開発や障害発生の抑制、予防法の開発による「病気からの解放」もまた重要な課題である。

謝辞

本稿を執筆する機会を与えて頂きました伏木信次先生に感謝申し上げます。本稿で紹介した研究は文部科学省原子力試験研究および原子力基礎基盤戦略研究イニシアティブの支援を受けて行ったものです。共同研究者各位に感謝します。

文献

1) Brenner DJ, Doll R, Goodhead DT, Hall EJ, Land CE, Little JB, Lubin JH, Preston DL, Preston RJ, Puskin JS, Ron E, Sachs RK, Samet JM, Setlow RB and Zaider M.

Cancer risks attributable to low doses of ionizing radiatio: Assessing what we really know, Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100: 13761-13766.

- 2) National Research Council of the National Academies. Health risks from exposure to low levels of ionizing radiation (BEIR VII, Phase 2), Washington, D.C: The National Academies Press, 2006; 65-90.
- 3) Brooks AL. Paradigm shifts in radiation biology: their impact on intervention for radiation-induced disease, *Radiat Res* 2005; 164: 454-461.
- 4) ICRP Publication 60. Recommendation of International Commission on Radiological Protection. Oxford: Pergamon Press, 1990.
- 5) Tanaka S, Tanaka III IB, Sasagawa S, Ichinohe K, Takabatake T, Matsushita S, Matsumoto T, Otsu H and Sato F. No lengthening of life span in mice continuously exposed to gamma rays at very low dose rate, *Radiat Res* 2003; 160: 376-379.
- 6) Tanaka III IB, Tanaka S, Ichinohe K, Matsushita S, Matsumoto T, Otsu H, Oghiso Y and Sato F. Cause of death and neoplasia in mice continuously exposed to very low dose rates of gamma rays, *Radiat Res* 2007; 167: 417-437.
- 7) Ono T, Uehara Y, Okudaira N, Fujikawa K, Kagawa N, Yoshida M, Hayata I, Nohmi T, Matsumoto T, Oghiso Y, Tanaka K, Ichinohe K, Nakamura S and Tanaka S. Alteration of genome structure induced by very low dose-rate irradiation in mouse tissues, *Data Sci J* 2009; 8: 36-41.
- 8) Okudaira N, Uehara Y, Fujikawa K, Kagawa N, Ootsuyama A, Norimura T, Saiki K, Nohmi T, Masumura K, Matsumoto T, Oghiso Y, Tanaka K, Ichinohe K, Nakamura S, Tanaka S and Ono T. Radiation dose-rate effect on mutation induction in spleen and liver of gpt delta mice, *Radiat Res* 2010; 173: 138-147.
- 9) Nakajima T, Taki K, Wang B, Ono T, Matsumoto T, Oghiso Y, Tanaka K, Ichinohe K, Nakamura S, Tanaka S and Neno M. Induction of rhodanese, a detoxification enzyme, in livers from mice after long-term irradiation with low-dose-rate gamma-rays, *J Radiat Res* 2008; 49: 661-666.
- 10) Uehara Y, Ito Y, Taki K, Neno M, Ichinohe K, Nakamura S, Tanaka S, Oghiso Y, Tanaka K, Matsumoto T, Paunesku T, Woloschak GE and Ono T. Gene expression profiles in mouse liver after long-term low-dose-rate irradiation with gamma rays, *Radiat Res* 2010; 174: 611-617.
- 11) Taki K, Wang B, Nakajima T, Wu J, Ono T, Uehara Y, Matsumoto T, Oghiso Y, Tanaka K, Ichinohe K, Nakamura S, Tanaka S, Magae J, Kakimoto A and Neno M. Microarray analysis of differentially expressed genes in the kidneys and testes of mice after long-term irradiation with low-dose-rate gamma-rays, *J Radiat Res* 2009; 50: 241-252.
- 12) Vares G, Uehara Y, Ono T, Nakajima T, Wang B, Taki K, Matsumoto T, Oghiso Y, Tanaka K, Ichinohe K, Nakamura S, Tanaka S and Neno M. Transcription factor-recognition sequences potentially involved in modulation of gene expression after exposure to low-dose-rate gamma-rays in the mouse liver, *J Radiat Res* 2011; 52: 249-256.
- 13) Lowe XR, Bhattacharya S, Marchetti F and Wyrobek AJ. Early brain response to low-dose radiation exposure involves molecular networks and pathways associated with cognitive functions, advanced aging and alzheimer's disease, *Radiat Res* 2009; 171: 53-65.
- 14) Sun Q, Akiba S, Tao Z, Yuan Y, Zou J, Morishima H, Kato H, Zha Y, Sugahara T and Wei L. Excess relative risk of solid cancer mortality after prolonged exposure to naturally occurring high background radiation in Yangjiang, China, *J Radiat Res* 2000; 41(Suppl): 43-52.
- 15) Tao Z, Zha Y, Akiba S, Sun Q, Zou J, Li J, Liu Y, Kato H, Sugahara T and Wei L. Cancer mortality in the high background radiation areas of Yangjiang, China during the period between 1979 and 1995, *J Radiat Res* 2000; 41(Suppl): 31-41.
- 16) Hayata I, Wang C, Zhang W, Chen D, Minamihisamatsu M, Morishima H, Wei L and Sugahara T. Effect of high-level natural radiation on chromosomes of residents in southern China, *Cytogenet Genome Res* 2004; 104: 237-239.
- 17) Gross L and Dreyfuss Y. Reduction in the incidence of radiation-induced tumors in rats after restriction of food intake, *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 7596-7598.
- 18) Gross L and Dreyfuss Y. Inhibition of the development of radiation-induced leukemia in mice by reduction of food intake, *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 7928-7931.
- 19) Yoshida K, Inoue T, Nojima K, Hirabayashi Y and Sado T. Calorie restriction reduces the incidence of myeloid leukemia induced by a single whole-body radiation in C3H/He mice, *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 26156-26159.
- 20) He D, Uehara Y, Furuya M, Ikehata H, Komura J, Yamauchi K, kakinuma S, Shang Y, Shimada Y,

Ootsuyama A, Norimura T and Ono T. Effects of calorie restriction on the age-dependent accumulation of mutations in the small intestine of lacZ-transgenic mice, Mech Age Develop 2011; 132: 117-122.

21) 国連科学委員会 2000 年報告書, 付属書 B, 東京: 実業広報社, 2002; 156-172.

22) 藤元憲三, Keran O'Brien. 我が国における宇宙線からの線量評価, 保健物理 2002; 37: 325-334.

23) <http://www.atomin.go.jp/reference/radiation/familiarity/index03.html#familiarity04>.

24) 藤元憲三, 全国屋内ラドン濃度マッピング, 千葉: 放医研刊行物 NIRS-M-171, 2004; 1-100.

著者プロフィール



小野 哲也 Tetsuya Ono

所属・職: 東北大学大学院医学系研究科ゲノム生物学分野・教授

略 歴: 1971 年 6 月 東京大学理学部生物化学科卒業

1976 年 3 月 東京大学大学院理学系研究科生物化学博士課程修了

1976 年 4 月 東京大学医学部放射線基礎医学講座 助手

1976 年 10 月～1978 年 4 月 Gerontology Research Center, NIH 研究員

1978 年 5 月～1979 年 4 月 Mayo Clinic 研究員

1982 年 4 月～1983 年 3 月 Mayo Clinic 研究員

1984 年 3 月 京都大学放射線生物研究センター 助教授

1988 年 9 月 東北大学医学部放射線基礎医学講座 教授

1997 年 4 月 現在 東北大学大学院医学系研究科ゲノム生物学分野 教授

専門分野: 放射線生物学

主な業績: 1. He D, Uehara Y, Furuya M, Ikehata H, Komura J, Yamauchi K, Kakinuma S, Shang Y, Shimada Y, Ootsuyama A, Norimura T, Ono T. Effects of calorie restriction on the age-dependent accumulation of mutations in the small intestine of lacZ-transgenic mice. Mechanisms of Ageing and Development 2011; 132: 117-122.

2. Uehara Y, Ito Y, Taki K, Neno M, Ichinohe K, Nakamura S, Tanaka S, Oghiso Y, Tanaka K, Matsumoto M, Paunesku P, Woloschak G, Ono T. Gene expression profiles in mouse liver after long-term low dose-rate irradiation with gamma-rays. Radiation Research 2010; 174: 611-617. (Corrections: Radiation Research 2010;174: 786)

3. Ono T, Ikehata H, Pithani V P, Uehara Y, Chen Y, Kinouchi Y, Shimosegawa T, Hosoi Y. Spontaneous mutations in digestive tract of old mice show tissue-specific patterns of genomic instability. Cancer Research 2004; 64: 6919-6923.