

## 高感度 DNA 損傷マーカーを用いた 低線量被ばく家畜の生体影響評価

### [1] 組織

代表者：中村 麻子

(大阪医科大学医学部解剖学教室)

対応者：福本 学

(東北大学加齢医学研究所)

志村 勉

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：なし

研究費：物件費32万円，旅費4万8千円

### [2] 研究経過

福島第一原発事故以降、放射線による生物学的影響は社会全体が懸念するところであり、低線量放射線に対する防護剤の開発および放射線発がん予防剤の開発は喫緊の課題であると考えられる。しかしながら、誘発される DNA 損傷量は放射線量に対し比例の関係にあることが様々な研究から明らかとなる一方で、最終的な発がんに関しては「確率論」として考えられているのが現状で、特に低線量放射線による発がんリスクは、大規模な疫学的研究が必要であることや、低線量放射線による損傷の分子レベルでの解析が行われていないことなどから、いまだその放射線量との関係性は明らかになっていない。

本研究は低線量放射線被ばくによる DNA 損傷レベルと発がんリスクの相関性を明確にすることを最終目的とし、福島第一原発事故による被ばく家畜の DNA 損傷レベルを、近年その高感度性からも注目されているリン酸化型ヒストン H2AX ( $\gamma$ -H2AX) (Fig.1) を用いてモニタリングした。具体的には、被ばく家畜から採取された血液よりリンパ球を分離し、 $\gamma$ -H2AX による免疫染色法を行った。細胞当たりを検出される  $\gamma$ -H2AX フォーカスの数を計測することにより、細胞当たりの DNA 損傷レベルを測定した。

以下、研究活動状況の概要を記す。

研究期間内における家畜のサンプル採取は対応者のグループによって行われ、血液サンプルを大阪医

科大学に発送、大阪医科大学にて血液の分離及び解析を行った。研究期間に得られた結果について平成25年2月22日に東北大学加齢研にて討議を行った。

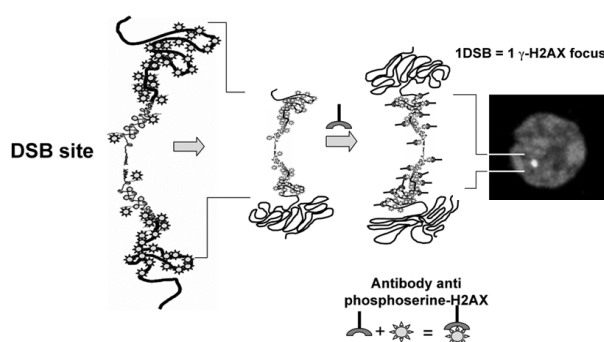


Fig.1. DNA double strand break (DSB)の発生直後、損傷部位周辺のH2AXはただちにリン酸化される。つまり、抗リン酸化型H2AX( $\gamma$ -H2AX)抗体を用いることで、DSBを $\gamma$ -H2AXのフォーカスとして検出することが可能である。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第1に、予備的実験として家畜(今回の実験では牛) サンプルで、問題なく $\gamma$ -H2AXの検出が可能であるかを検討した。牛血液サンプルに放射線照射後、リンパ球を分離、 $\gamma$ -H2AX による免疫染色を行った。その結果、放射線量に依存して $\gamma$ -H2AX フォーカスレベルが上昇していることが確認された (Fig. 2)。この結果は、牛の血液サンプルを用いても $\gamma$ -H2AXの検出が可能であることを示していると同時に、他の動物種同様に $\gamma$ -H2AXをモニタリングすることで放射線量の推測が可能であることを示唆している。

第2に、避難地域5か所から被ばく家畜の血液を採取し、リンパ球における $\gamma$ -H2AXレベルを検討した結果、家畜が捕獲された5か所の地域すべてにおいてコントロール家畜(東京と北海道に生息する牛、合計6頭)と比較して有意に高いことが明らかとなった (Fig. 3)。コントロールおよび被ばく家畜、いずれにおいても大多数(90%近く)のリンパ球は $\gamma$ -H2AX フォーカスを有していないが、被ばく家畜

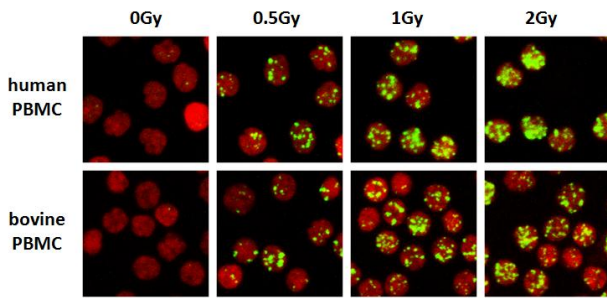


Fig. 2 ヒトリンパ球と牛リンパ球における放射線依存的DNA損傷レベルの増加  
放射線照射後30分で血液サンプルからリンパ球を分離し、 $\gamma$ -H2AXによる免疫染色を行った。 $\gamma$ -H2AXはAlexa488二次抗体にて標識、DNAはpropidium iodideによって標識した。

では明らかに、フォーカスを有する細胞数の増加、さらには細胞当たり10個以上という多数の $\gamma$ -H2AXフォーカスを有する細胞数の増加が認められた。そのため、5カ所すべての被ばく家畜のDNA損傷レベルの平均はコントロールと比較して有意に高く、避難地域におけるDNA損傷誘発が示唆された。しかし、被ばく家畜におけるDNA損傷が、原発からの放射線を直接の原因とするものか、さらには被ばくが内部被ばくであるか、外部被ばくであるかについては不明であり、さらなる解析が必要である。

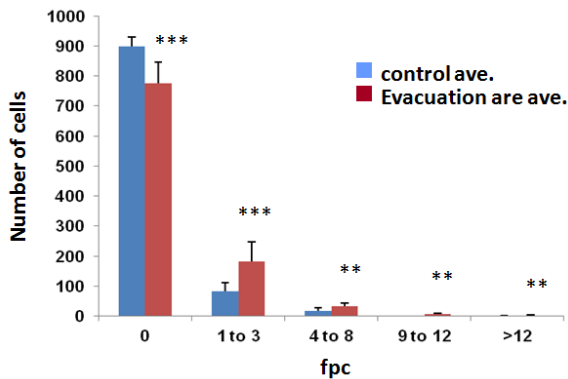


Fig. 3 被ばく家畜のリンパ球における $\gamma$ -H2AXレベル  
避難地域で捕獲された家畜のリンパ球を細胞当たりの $\gamma$ -H2AXフォーカス数によってグラフ化した。コントロールと被ばく家畜はそれぞれ一頭あたり1000リンパ球を解析し、グラフには標準誤差を示す。

### (3-2) 波及効果と発展性など

現代社会において、放射線(特に低線量放射線)に被ばくした際の発がん影響については研究者や医療従事者だけではなく社会全体が検討しなければいけない問題である。本研究により被ばく家畜のリンパ球におけるDNA損傷レベルが、コントロールよりも優位に高いことが示唆された。この結果は、原発事故に起因する低線量放射線被ばくが、どの程度のDNA損傷を誘発しているのか、さらにはどのような生体影響をもたらすのかを知るため

の重要な知見であると考えられる。今後、 $\gamma$ -H2AXフォーカスを有する細胞に特異性があるのか、さらには体内で検出された放射性同位元素(セシウム137等)レベルと血中のDNA損傷レベルに相関性はあるのか、など、様々な問題を検討していく必要がある。しかし、本研究で得られた結果は、被ばく家畜の生体影響として、DNA損傷の増加が認められることを示した最初の研究報告であり、今後、研究成果の社会的意義は高まっていくと考えられる。

### [4] 成果資料

得られた実験結果をもとに、論文作成中である。