ICRP TG91のドラフトに関するシンポジウム

細胞放射線生物学研究（第3章関連）

東京科学大学　総合研究院
ゼロカーボンエネルギー研究所

松本　義久

Institute of
SCIENCE TOKYO

UNSCEAR 2012以前のアプローチ(79)

体細胞
(Somatic cells)

生殖系列細胞
(Germline cells)

生成 **DNA損傷・変異 (DNA damage and mutation)** **修復**

遺伝的不安定性(遅延性効果)
非標的細胞効果(バイスタンダー・アブスコパル効果)
免疫応答
?

がん
(Cancers)

遺伝性影響
(Hereditary effects)

3.1 LDEF,DREFで考慮すべきメカニズムとエンドポイント

Institute of SCIENCE TOKYO

UNSCEAR 2022における包括的評価(80)

現在のアプローチを変える必要を迫る確固たる知見はほとんどない

Little robust information was identified that suggested a need to change the current approach taken for low-dose radiation cancer risk inference as used for radiation protection purposes.

- 免疫応答 (immune reactions)
- 腫瘍血管新生 (tumour vascularization)
- DNA修復機能の賦活化 (enhanced DNA repair functions)
- 遺伝的不安定性 (transmissible genomic instability)
- バイスタンダー効果 (bystander effects)
- (低線量)超感受性 (hyper-radiosensitivity)

→現在のアプローチを変えるに十分なエビデンスがあるとは判断されない

- 適応応答 (adaptive responses)

→確固たるメカニズム的基盤はなく、効果もさまざまだが、今後の研究が必要

その他のレビュー

(81)EPRI: US Electric Power Research Institute (2009)
低線量域では多くの放射線生物作用のメカニズムが高線量域と異なる
Recent radiobiological studies in the low dose region demonstrate that the mechanisms of action for many biological impacts are different from those seen in the high dose region

(82)Trabalka et al. (Oak Ridge Cener for Risk Analysis) (2017)
遺伝学的、細胞遺伝学的エンドポイントを強調、遺伝的不安定性やバイスタンダー効果が低線量、低線量率放射線の線量-効果関係を修飾する可能性に注目

(83)第2章のparagraph 68-71 (66-69か?)に記載したレビューの結論から、低線量、低線量率放射線の影響を考える際に最も信頼できるデータはDNA損傷、修復と変異、染色体異常の誘発に関係する。線量率に注目したレビューBrooks et al., 2016でも同様の結論。

まとめ(84)

◆発がんに関しては、細胞分裂を経て継承される(transmissible)持続的変化につながるエンドポイントとメカニズムを考慮すべきである。

例）

・細胞生存(細胞死)：直接つながらないが、間接的な関与はある可能性がある

・染色体異常：転座→安定型異常→継承される

二動原体→不安定型異常→継承されない

◆DDREFが適用される低LET放射線を用いた研究にフォーカスする。

3.2 各エンドポイントについての検討

3.2.1 DNA損傷と修復(85)

◆生物物理学的には、DNA(および他の生体分子)の損傷は線量の一次関数(simple linear function)で生成すると考えられる。
◆特に、DNA二本鎖切断(DSB)と複雑な損傷が重要である。
◆線量が数mGy以下になると、一部の細胞にだけ損傷が生じる(低LET放射線では1 Gyあたり1細胞あたり約40個)。
◆γ-H2AXと53BP1の免疫染色や蛍光タグ(GFPなど)による研究は、DSBの生成や修復の定量的関係に興味深い新たな知見をもたらしている。

- Neumaier et al., 2012 ：線量あたり高線量の場合と比べて多い(しかし小さい)数のフォーカス形成
- Beels et al., 2009, 2010：超線形(supra-linear)なフォーカス形成

DSBが凝集して”repair complex”を形成? しかし、技術的注意点も(Barnard et al. 2013)
低線量で高線量より線量あたり多くのDSBが誘発されるとすると、リスクは高くなる。
γ-H2AXと53BP1はDSBそのものでなく、DSBへの応答である。

3.2 各エンドポイントについての検討

Institute of SCIENCE TOKYO

3.2.1 DNA損傷と修復(86-88)

◆γ-H2AXと53BP1の免疫染色や蛍光タグ(GFPなど)による研究からの知見

1) 線量あたりのフォーカスは高線量の場合と比べて多い(しかし小さい) (Neumaier et al., 2012)、超線形(supra-linear)なフォーカス形成(Beels et al., 2009, 2010)
→DSBが凝集して”repair complex”を形成? しかし、技術的注意点も(Barnard et al. 2013)
低線量で高線量より線量あたり多くのDSBが誘発されるとすると、リスクは高くなる。

2) フォーカスの消失が遅い、完全に戻らない(Rothkamm and Löbrich, 2003; Grudzenski et al., 2010; Ojima et al., 2011)
→持続性のDSB。誘導性のDSB修復機構の存在? (DSB修復遺伝子の誘導?)

3) 持続性DSBを持つ細胞はどうなる?
アポトーシスによる除去? しかし、微小核形成実験とは一致せず

Institute of SCIENCE TOKYO

3.2.1 DNA損傷と修復(89)

◆DSB数(中性フィルターエリューション)と細胞致死、染色体異常、変異との関係 (Chadwick, 2017)

●数十Gyまで「直線-二次曲線モデル」に最も一致

●DSB数と細胞致死、染色体異常、ある種の変異の間に相関

●細胞あたりの変異数と発がんの関係の式を導出

- 低線量率では直線
- 高線量率では極大値を持つ(それ以上では発がんが減少する)直線-二次曲線

●DREFは線量によって異なり、単一の値を決めることはできないと思われる

Institute of SCIENCE TOKYO

3.2.2 変異の誘発(90)

◆変異の誘発は低線量、低線量率でも高線量、高線量率と変わらない

●ヒトTK6細胞、p53欠損WI-L2-NS細胞におけるHLS-A2遺伝子欠損変異
50-500 mGyの範囲で直線、p53遺伝子の有無による違いなし(Boei et al., 2012)

●TK6細胞におけるチミジンキナーゼ遺伝子欠損変異
0.5, 1 Gyで線量率1.4, 5, 15, 400 mGy min^{-1}による違いなし(Manesh et al., 2014)

◆変異の誘発は線量率に依存する(Vilenchik and Knudson, 2000, 2006)

◆低線量放射線で非照射の場合より変異が減少する

●ショウジョウバエ幼虫(Koana et al., 2012)

3.2 各エンドポイントについての検討

Institute of SCIENCE TOKYO

3.2.2 変異の誘発(91)

●SWRマウス脾臓、肝臓でのバクテリオファージλ red-gamレポーター遺伝子の変異 (Okudaira et al, 2010)
線量率：920 mGy min^{-1}, 1 mGy min^{-1} and 12.5 μGy min^{-1}; 総線量2-8 Gy
高線量率と低線量率で約5倍の違い。低線量率では大きな、複数座位含む欠失少。

●マウス精原細胞での特定座位法による変異の後向き解析(Russell and Hunsicker, 2012)
大きな、複数座位含む欠失、低線量率照射(0.0007-0.8 R min^{-1})＜高線量率照射(24-1000 R/min^{-1})
小さな単一遺伝子、遺伝子内欠損は線量86-1000 Rの範囲で線量率による違いなし。

共通点として大きな欠失は線量率依存的(sensitive)だが、点変異や小さな欠失は依存が小さい
→DREFは大きな欠失によるエンドポイントにおいて最も意味を持つ(がんなど)

Institute of SCIENCE TOKYO

3.2.2 変異の誘発(92)

●チョルノービリ事故での131Iの内部被ばくを受けた小児の乳頭型甲状腺がん359例の解析(Morton et al., 2021)

- 線量：平均250 mGy、11-8,800 mGy
- 遺伝子融合を起こすドライバー変異(主にMAPK経路に関わる)は線量依存的に増加
- クローナルな小規模欠失、単純/等価な構造変異も増加

→NHEJで生じたと推測される　c-NHEJか、A-EJか

→DSBが放射線による乳頭型甲状腺がんにつながる初期のイベントと考えられる

3.2 各エンドポイントについての検討

3.2.3 染色体異常の誘発(93)

●初期のマウス、サルの精原細胞での染色体損傷(交換型転座含む)　DREF：2-10
(Searle et al., 1976; Pomerantseva et al., 1984; van Buul et al., 1986, 1989など)

●マウスDREF：染色体異常(転座、二動原体) 3.8-9.1、Dlb-1遺伝子変異 ~6
(Tucker et al., 1998)

●^{60}Coで汚染された建物の住民(30-40 mGy year^{-1})　modest DREF
(Hsieh et al., 2001, 2002)

●マウス低線量率(20 mGy day^{-1})被ばく(Tanaka et al., 2009, 2013,2014)
DREF：染色体異常 4.5-5.2 @ 100 mGy; 24.5 @1 Gy (2009)、転座 4.5; 二動原体 2.3(2013)
1 mGy day-1では傾きがさらに小さくなる(2014)

◆少なくとも10-0.01 Gy min^{-1}でのDNA修復による線量率効果(Foray et al, 1996)

◆TK6での染色体異常は1.4 – 30 mGy h^{-1}で線量率による違い見られず(Manesh et al, 2014)

◆染色体異常における線量率効果 (Vilenchik & Knudson, 2000, 2006; Ulsh et al., 2001)

Institute of SCIENCE TOKYO

3.2.3 染色体異常の誘発(94,95)

微小核形成(94)

- ヒト初代培養皮膚線維芽細胞(Boei et al., 2012)
  0-100 mGyで直線、20 mGyで有意な増加、S期で感受性(生存率と異なる)
- In vivo照射マウスの網状赤血球(Manning et al., 2014)
  10-100 mGyで直線、しきい値のエビデンスなし
- ヒトから採取した血液を照射(Bertucci et al., 2016)
  0.3 Gy min-1では直線、 1 Gy min-1 では直線-二次曲線

染色体異常を指標としたDDREF(95)

- EPRI, 2009. DDREF = 4-6.
- SENES, 2017. DDREF = 2-6.

3.2.4 細胞周期チェックポイントとアポトーシス(96)

◆G2/MチェックポイントはDSB 10-20個で活性化(Lobrich and Jeggo, 2007)

↓

200 mGy以下では活性化されない

↓

発がんにつながる可能性⇧(?) (Scott, 2007)

低線量超感受性(Marples and Joiner, 1993; Krueger et al., 2007)

アポトーシス⇧(?) (Marples et al., 2003)

◆アポトーシスはmGyオーダーでも活性化(Bauer, 2007)

Institute of SCIENCE TOKYO

3.2.4 細胞周期チェックポイントとアポトーシス(97)

◆アポトーシスとがんリスクの関係

●前がん状態の細胞、DNA損傷・変異を起こした細胞の死　→　リスク⇩

●代償的に幹細胞が増殖　→　リスク⇧

∵　ヒトがんで見られる変異の多くはDNA複製のエラーに帰因

(Tomasetti and Vogelstein, 2015; Tomasetti et al., 2017)

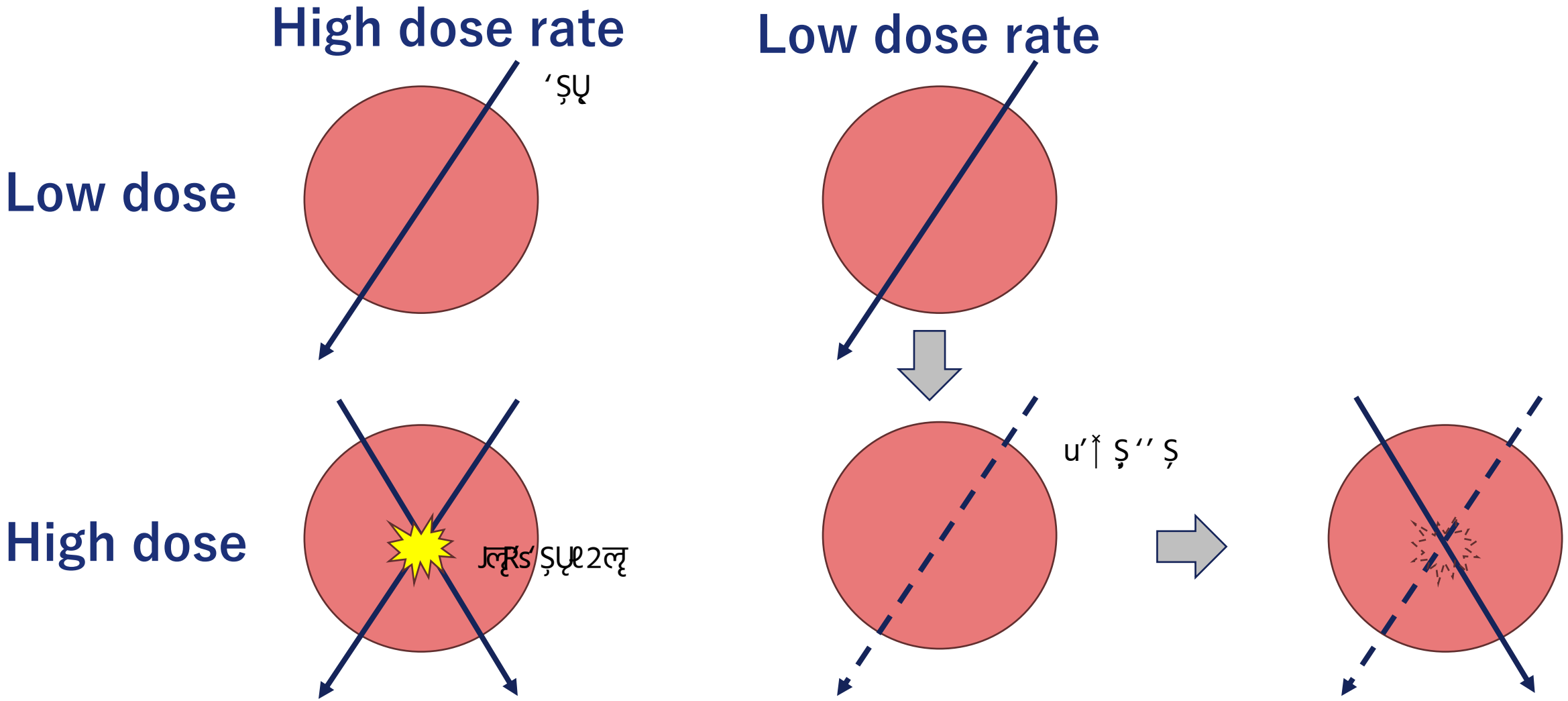
しかし、これには反論も(Little et al., 2016)

幹細胞の分裂とがんリスクとの関係は現時点では明らかでない。

3.3 低線量と低線量率影響　一緒に考えるべきか

Institute of SCIENCE TOKYO

(99-101)低線量影響と低線量率影響を一緒に考えることは合理性がある



3.3 低線量と低線量率影響　一緒に考えるべきか

Institute of SCIENCE TOKYO

(102)低線量と低線量率は異なる（一緒には考えられない）

◆最初に生成するDSB数は線量と直線関係
しかし、細胞死、染色体異常、変異は直線-二次曲線関係

◆Multi-color FISHからの知見：単純な転座、二動原体と思われる異常も複雑な起源
少なくとも2本の染色体での3個のDSBによる
(Griffin et al., 1995; Simpson and Simpson, 1995; Anderson et al., 2000)
本当に単純な交換型転座は線量と直線関係で上向きのカーブとなる明確な証拠なし
(Loucas and Cornforth, 2001; Loucas et al., 2004; Cornforth, 2006)

◆染色体異常のLDEFは1.2-1.3、DREFは5.7(0.8 mGy min^{-1} vs 1.1 Gy min^{-1})
(Loucas et al., 2004)

3.3 低線量と低線量率影響　一緒に考えるべきか

Institute of SCIENCE TOKYO

(103)染色体異常とがんとの関係

◆長年関係あると考えられているが、具体的にどのタイプの染色体異常ががんを引き起こすかは明らかになっていない。
欠失、挿入を含むさまざまな染色体異常ががんの種類に応じて頻繁に見られるが、因果関係を示すのは難しい。

●マウス急性骨髄性白血病モデルではがんと因果関係がある染色体異常が示唆される。(Verbiest et al., 2015)

●いくつかのヒト集団において、末梢血中の染色体異常ががんリスクの指標となる可能性。(Bonassi et al., 2008, 2011)

さまざまなタイプの染色体異常が発がんに関わると考えられる。
単純な交換型転座がより複雑な異常よりがんリスクに密接に関わるかどうかは不明。
細胞分裂を経て維持されることは必須であり、本当に単純な異常が重要

3.3 低線量と低線量率影響　一緒に考えるべきか

Institute of SCIENCE TOKYO

(104)DNA修復遺伝子の発現や多型の影響

- マウスで非相同末端結合(NHEJ)、相同組換え関連遺伝子ががんリスクや臓器特異性に関わる(Degg et al., 2003; Haines et al., 2010, 2015)
- DNA二本鎖切断修復の経路選択に関わるCtIP遺伝子の一塩基置換、一塩基多型(SNP)によって放射線誘発白血病に関する感受性が上昇(Patel et al., 2016)

3.3 低線量と低線量率影響　一緒に考えるべきか

Institute of SCIENCE TOKYO

(105)”Limiting dose rate”

◆傾きがLQの最初の傾き*と同じになるとき　(*線量-効果曲線の傾き)
　＝損傷の生成が修復と以下になるとき

◆哺乳類では一般的に0.1 mGy min^{-1}と考えられる
　＝確率的に100個のうち1個の細胞を1つのトラックが横断する線量率
　→1時間のうちに複数のトラックが横断する細胞はない
　(Hall and Giaccia, 2011; UNSCEAR, 2022c)　1 時間の意味?　NHEJのkinetics?

◆ 0.1 mGy min^{-1}以下で傾きが減少することはないと予想される

●単純な転座の(LQモデルに当てはめた)一次項は1 Gy min^{-1}に比べて1 mGy min^{-1}で小(Loucas et al., 2004)

●マウスのオスの生殖細胞系列での変異(照射オスの仔での変異)は1 Gy min^{-1}に比べて1 mGy min^{-1}で少(Russell and Kelly, 1982)

●マウスのメスの生殖細胞系列での変異(照射メスの仔での変異)の傾きは0.01 mGy min^{-1}でさらに減少(Searle, 1974)

3.3 低線量と低線量率影響　一緒に考えるべきか

Institute of SCIENCE TOKYO

(105)”Limiting dose rate”

◆幹細胞の競合(Stem cell competition) (ICRP 2015)

- 組織幹細胞は互いに競合状態にある
- 何かの生理的擾乱(disturbance)によって優位性(competitiveness)が変わる

→一つのトラックの横断もそのような擾乱となりうる

→ 1 mGy min^{-1}以下でも、hitを受けた細胞の競合的排除により、傾きが減少しうる

3.3 低線量と低線量率影響　一緒に考えるべきか

Institute of SCIENCE TOKYO

(106)まとめ

◆従来のエビデンスからは、放射線による初期の細胞での効果に対してはLQモデルを使用するのがよいだろう

◆最近のエビデンスはこれに疑問を投げかけ、細胞分裂を経て継承可能な染色体異常については直線的関係が示唆される

◆しかし、どの細胞レベルでのエンドポイント(細胞死、DNA損傷、染色体異常、変異…)についてもがんとの関係は明らかにされていないことに注意が必要

◆細胞レベルでの作用は、組織、個体レベルでは「潜伏期」の間に起こるいろいろなことに影響される

分子・細胞レベルでのデータをLDEF、DREF、DDREFの定量的評価に使用するには注意が必要

3.4 放射線に対する応答の修飾

(107)

◆高線量、高線量率と低線量、低線量率で異なりうる発がんの修飾要因
「非標的」効果、遺伝子発現調節の違い、免疫系の調節の違い　など

UNSCEAR 2012, 2022

- 「非標的」効果：メカニズム理解は進んできたが、多くは初期的な観察にとどまる。現象と疾患(がんなど)との因果関係が明確でない。
- 遺伝子およびタンパク質発現の違い：結果が一貫性に欠け、リスク評価に使うにはさらなるデータが必要。
- 免疫応答：放射線による免疫システムへの変化や炎症反応の惹起については、疾患との関係はより明確であるが、放射線のインパクトがよく分かっていない

3.4 放射線に対する応答の修飾

Institute of SCIENCE TOKYO

(108)遺伝子発現パターンの変化

◆Sokolov and Neumann, 2015のReview

- ヒト細胞における低線量放射線応答：マイクロアレイなどのハイスループット技術による解析で1 cGy以下でもある程度の変化を引き起こす
- しかし、持続的ではなく、線量依存的でない
- 遺伝子型、細胞の種類、組織によって異なる、個人間、細胞間差異も大きい
  →遺伝的、エピジェネティックな背景に左右される
- 多くの「共通の」遺伝子発現のシグニチャー(特徴)は他の研究では見られない

例えば、DNA修復遺伝子の発現変化のように、低線量と高線量での応答の違いを説明できるようなコンセンサスは存在しない

◆UNSCEAR 2022

低線量放射線による遺伝子発現シグニチャー(特徴)のコンセンサスは存在しない

◆多くは照射後最長で24時間後、これががんリスクにどう関わるか不明

・・・というが、持続的でなければ関係がない／薄いとも言えないのでは？

3.4 放射線に対する応答の修飾

Institute of SCIENCE TOKYO

(109)継承される遺伝的不安定性(Transmissible genetic instability)

●低線量では誘導されない(Zyuzikov et al., 2011; Rithidech et al., 2012; Cho et al., 2015; Candéias et al., 2018)

◆低線量放射線のリスクについて考慮する必要はなさそうである
しかし、高線量被ばくでは誘導され、低線量に比べて大きなリスクにつながる可能性は考えられる(そのために、高線量被ばくの影響から低線量被ばくの影響を外挿するときに過大評価につながる可能性がある?)

3.4 放射線に対する応答の修飾

Institute of SCIENCE TOKYO

(110)バイスタンダー効果　(Review: Daguenet et al., 2020)

◆バイスタンダー効果：直接被ばくした細胞と比較的近い距離での影響
　アブスコパル効果：直接被ばくした部位とかなりの距離での組織、組織間での影響

◆バイスタンダー効果は損害がある場合と便益がある場合、すなわちリスクを上げる場合と下げる場合の両方がありうる。

◆バイスタンダー効果の担い手：微小顆粒(microvesicle)による細胞間コミュニケーション、細胞間のジャンクションを通じたコミュニケーション、可溶性伝達物質の拡散　など

具体的メカニズムが分からない、研究によって結果が異なる
→低線量、低線量率放射線リスクの推定に使うことは難しい

3.4 放射線に対する応答の修飾

Institute of SCIENCE TOKYO

(111,112)適応応答(Adaptive response)

◆数mGyから10 mGy程度の”priming”被ばくを細胞あるいは固体に施す

↓

その後のGyオーダーの”challenging”被ばくの効果が減弱される

◆高バックグラウンド地域住民、実験的研究など(UNSCEAR 1994)

●細胞、個体レベルでの報告

(Saini et al., 2012; Jin et al., 2015; Park et al., 2015; Vieira Dias et al., 2018など)

●雌雄差：あり(López-Nieva et al., 2016)、なし(e.g. Gridley et al., 2013)

そもそも適応応答見られず(e.g. Bannister et al., 2015)

さまざまな結果の報告が混在、メカニズム不明

→LDEF、DREFの評価に用いることは現時点では困難

3.4 放射線に対する応答の修飾

Institute of SCIENCE TOKYO

(113)免疫系による修飾

●免疫関連遺伝子のバリアントを持つ集団の研究で示されている
(Sigurdson et al., 2007; Schonfeld et al., 2010)

●原爆被爆者では長期にわたる擾乱(e.g., Kusunoki et al., 2010)

●すでに炎症を起こしている組織の炎症の軽減(e.g. Arenas et al., 2006, 2008)

●しかし、炎症を起こしていない組織に対する低線量放射線の影響は不明

一貫性のある効果が観察されれば、低線量放射線はリスクを低減し、高線量放射線は炎症促進性と見ることができるだろう。

しかし

一貫性のある見方がないため、これらの知見をLDEF、DREFの評価の際の考慮に入れるのは時期尚早

3.4 放射線に対する応答の修飾

Institute of SCIENCE TOKYO

(114)発がんの後期段階への影響

◆転移性浸潤、血管新生などの影響があれば、その段階でも発がんを修飾しうる

◆エビデンスはほとんどないが、多くの研究で細胞遊走(migration)、浸潤性、上皮間葉転換(EMT)などを考慮

●低-中線量の放射線によるEMT、細胞遊走の促進

(Sofia Vala et al., 2010; Wang et al., 2012a,b; Ghosh et al., 2014)

しかし、逆に細胞遊走減弱という報告も(Kaushik et al., 2017)

全体的に見れば低線量率放射線は発がんの後期段階を促進しそうだが、データが少なく、現時点では確固たる結論には至らない

3.5 結論(と今後の課題・展望)

Institute of SCIENCE TOKYO

(115)

- In vivo、in vitroでの染色体異常、大規模欠失変異からはLDEF、DREFとして3-5が示唆
- 染色体に関するエンドポイント(特に微小核)ではしきい値存在の証拠は弱い
  →LNTの有効性を示唆
- LNTを用いることは生物作用メカニズムが高線量と低線量で同じであることを暗示
- DSBの誘発と持続性が高線量と低線量で異なるというエビデンス増加
  損傷を負った細胞と損傷そのものがどうなるか(fate)追跡が必要
- マウス体内で照射された幼若血液細胞における微小核形成実験では、mGyオーダーの放射線で、損傷を負ったままM期に進行し、排除される細胞が出てくる
- G2/M細胞周期チェックポイントは200 mGy以上で起こる
  →低線量でのリスク増
- (しかし)損傷を持ってG2/Mチェックポイントを通過した細胞はアポトーシスで除去

低線量で損傷を受けた細胞の除去は完全か、一部(不完全か)?

3.5 結論(と今後の課題・展望)

Institute of SCIENCE TOKYO

(116-118)

- DNA損傷、変異が放射線発がんにおいて中心的な役割を担うことに疑問を投げかけるデータは少ない
- 全ゲノムシーケンシングで放射線による「シグニチャー」 (Behjati et al., 2016)
  この研究は放射線治療で用いられる高線量だが、将来的に低線量でも見られるかも
- リスクを増加、減少させる要因は多くあるが、現時点での理解は不十分
- 適応応答、(継承される)遺伝的不安定性、バイスダンダー効果、遺伝子発現応答変化、細胞遊走/上皮間葉転換、免疫系への影響などの文献はDDREFの評価にインパクトを与えるには不十分
- 高線量および低線量の急性あるいは長期照射がmicroRNA発現に与える影響の研究は増えてきており、将来的には関係してくるかも知れない
  (Chaudhry et al., 2012; Luzhna and Kovalchuk, 2014; Wang et al., 2015)

3.5 結論(と今後の課題・展望)

Institute of SCIENCE TOKYO

(119)

◆全体的傾向としては、細胞・分子レベルのデータは低線量・低線量率放射線のリスクの評価にDDREFを適用することを支持する。

◆Brooks et al., 2016のreviewは専ら線量率の効果を議論しているが、概ね同様の結論となっている。

◆染色体の解析においては、DDREFの値として大きくなく、4程度が示唆される。

◆DNA損傷応答と変異が生じるプロセスは、20 mGyまでの低線量、20 mGy day^{-1} and 1 mGy day^{-1}までの低線量率においても、高線量、高線量率と同様に働く。

DDREFとして染色体異常に基づく4という値は、さまざまなエンドポイントに基づくDDREF値の上限に近いと考えられる。
言うまでもなく遺伝子、染色体レベルでの変異から発がんに至るまでには長時間にわたる道のりがあり、その間の発がんを修飾する多くのプロセスが、不明ではあるものの、DDREFの大きさに影響する可能性はある。