

氏名	長島 明輝
学位の種類	博士（理学）
学位記番号	博理工 684 号
学位授与年月日	令和 3 年 6 月 3 0 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	高感度検出系を用いた低濃度トリチウム水による体細胞突然変異に関する研究
審査会	委員長 立花 章、田内 広、中村 麻子、小林 純也

論文内容の要旨

福島第一原子力発電所事故を契機に、低線量の放射線被曝による健康影響が一般公衆の関心事になっている。とりわけ、施設内で発生する放射性同位元素を含む汚染水については、多核種除去設備（ALPS）などによりその中に含まれる大部分の放射性同位元素が除去されるが、トリチウム（トリチウム水：HTO）は除去することができない。将来的に ALPS 処理水を処分する際に HTO による人体や環境に与える影響や社会的な風評が懸念されている。そのため、低濃度 HTO 曝露による生物影響を明らかにすることが喫緊の課題となっている。

低線量被曝においては発がんや遺伝子変異といった確率的影響に対する評価が特に重要である。しかしながら、一般的に確率的影響として生じる事象は自然発生でも起こり得るため、低線量、低線量率の放射線被曝ではそれが自然発生によるものか、放射線に誘発されて生じたものかを区別することが困難となる。本研究では、低濃度 HTO による体細胞突然変異の線量率依存性を調べるため、体細胞突然変異の高感度検出系（GM06318-10 細胞）を用いた研究を行った。GM06318-10 細胞は内在性の *Hprt1* 遺伝子が欠損したハムスター細胞に正常なヒト X 染色体を導入し、ヒト X 染色体上の *HPRT1* 遺伝子を突然変異の標的とした細胞系である。この細胞系において細胞の生存はヒト X 染色体で起こる突然変異イベントとは独立しており、加えてげっ歯類細胞に導入されたヒト染色体の不安定性という特徴と合わせて、内在性の *Hprt1* 遺伝子を標的とした従来の検出系と比較して約 50～100 倍の高頻度で突然変異を検出できる。

これまでに、GM06318-10 細胞に低線量 X 線を照射した際の突然変異体頻度解析の結果、X 線誘発突然変異体頻度は線量依存的に増加し、0.15 Gy 以上の線量で非照射群に対し統計的に有意であったことを明らかにした。また、GM06318-10 細胞系では突然変異体の変異スペクトルを解析することにより放射線誘発による変異と自然発生による変異を区別できる可能性があることを報告した。

本研究では、コンフルエントの GM06318-10 細胞に低濃度 HTO 処理を行い、突然変異体頻度と突然変異スペクトルの線量率依存性を調べ、低濃度 HTO による突然変異影響を明らかにすることを目的とした。細胞への HTO 曝露は 4.9 mGy/day から 192 mGy/day までの線量率で、総線量が 0.2 Gy に達するまで HTO を含む培地で培養することで行った。その結果、HTO 誘発突然変異体頻度は 21.6 mGy/day 以上の線量率で非照射の Control に対して有意に増加したのに対し、11.0 mGy /day 以下の線量率では Control とほぼ同程度の値となり、線量率の低下による顕著な傾向の変化が見られた。また、HTO 誘発 HPRT 欠損突然変異体について、ヒト X 染色体特有の 4 座の STS マーカーを指標とした PCR 解析により変異スペクトルを調べたところ、実験で用いた線量率のうち、高い線量率の HTO 曝露では放射線による DSB によりヒト X 染色体が欠失することで形成された変異体が明確に増加する傾向が認められたのに対し、低い線量率の HTO 曝露ではこの細胞系の特徴であるヒト X 染色体の脱落によって形成された変異体が高頻度となった。さらに、各 STS マーカーごとの欠失割合を比較すると、ヒト X 染色体長腕のセントロメア近傍における欠失割合の変化が誘発突然変異体頻度の変曲点と一致することがわかった。

本研究をまとめると、HTO 誘発突然変異体頻度と変異スペクトルの両方において 11.0 mGy /day から 21.6 mGy/day の間の線量率に明確な傾向の変化が起こり、低線量率側では突然変異が自然発生イベントに移行することを発見した。本研究の結果とマウスに HTO を経口投与し腫瘍発生を調べた Yamamoto ら（1995、1998）の実験結果を合わせると、HTO によって誘発される確率的影響においては 11.0 mGy /day から 21.6 mGy/day の間に線量率のしきい値が存在する可能性が示唆される。

論文審査の結果の要旨

福島第一原子力発電所事故をきっかけに、低線量放射線被ばくの生体影響が注目されてきた。とりわけ福島原発にたまり続ける処理水に残るトリチウムについては社会的関心も高い。発がんや遺伝子変異といった放射線の確率的影響は、どのような低線量、低線量率であっても頻度が上昇すると仮定されているが、実際に証拠となるデータがあるわけではない。本研究は、低濃度トリチウム水による細胞の遺伝子突然変異誘発を詳細に解析し、細胞レベルの影響で線量率の「しきい値」が存在する可能性を初めて示した研究である。所属研究室で独自に樹立された、低線量・低線量率放射線による遺伝子突然変異が解析可能な高感度検出系を利用し、当初に明らかにしたX線誘発突然変異に関して質的变化が追跡可能であるという研究成果を活かし、4.9 mGy/day~192 mGy/dayまでの線量率で総線量が0.2 Gyに達するまで照射処理を行い、体細胞突然変異頻度と変異の質的变化を詳細に解析した。その結果、トリチウム水誘発突然変異体頻度は11 mGy/dayと21.6 mGy/dayの間でその傾向が大きく変化し、11 mGy/day以下の線量率では誘発突然変異頻度は顕著に減少し、そのレベルは非照射細胞と同程度になることを見出した。さらに、得られた突然変異体の標的染色体を詳細に解析し、11 mGy/day以下の線量率と21.6 mGy/day以上の線量率の間で変異スペクトルに変化があることを見出した。これらの結果から、ごく低線量率のトリチウム被ばくで生成される突然変異は、自然発生で生じる突然変異と質的に類似するようになり、トリチウムβ線で誘発される体細胞突然変異には11mGy/dayと21.6mGy/dayの間に線量率に関するしきい値が存在することを考察している。令和3年5月7日に公聴会、審査会を行い（学外委員はオンラインで参加）、5月10日に最終試験を実施した結果、本論文は、申請者の緻密な文献調査と独創的な研究計画、慎重な予備実験に裏打ちされ、洗練された実験技術に基づいて実施されたものであり、考察も十分にされていると判断された。また、本研究の成果は、低線量放射線の生体影響の理解に新たな切り口を与えるものであり、放射線生物学の分野に大いに貢献する新発見を含むものである。学位申請に関わる基礎条件も満たしていることから、本学大学院理工学研究科の博士（理学）の学位論文として合格と判定した。