

氏名	砂 押 正 章		
学位の種類	博士 (理学)		
学位記番号	甲博理工第508号		
学位授与年月日	平成27年9月24日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
学位論文題目	放射線誘発マウスTリンパ腫発生モデルを用いた幼若期被ばくによる発がんメカニズムの研究		
審査会	主査 立花 章	委員 石見 幸男	
	委員 田内 広	委員 柿沼 志津子	

論文内容の要旨

原爆被爆生存者の疫学調査および小児への CT や放射線治療後の追跡調査により、小児は大人と比較して放射線に対して感受性であり、発がんリスクが高いと考えられている。それゆえに、被ばく時年齢依存的な発がんリスクおよびメカニズムを明らかにし、特にリスクの高いとされる小児の放射線被ばくによる発がんリスクの低減に寄与する情報を提供する必要がある。本研究では、放射線の被ばく時年齢の異なるマウスで誘発された T リンパ腫の遺伝子変異を解析し、被ばく時年齢に依存した発がんメカニズムの相違を明らかにすることを目的とした。

T リンパ腫は、1, 4, 8 週齢の雌の B6C3F1/Cr1j マウスに 1.2 Gy の X 線を 1 週間おきに 4 回全身照射することにより誘発した。幼若期照射群 (1 週齢から照射)、思春期照射群 (4 週齢から照射)、成体期照射群 (8 週齢から照射) の 3 群から得られた T リンパ腫において、4 番, 11 番, 19 番染色体におけるヘテロ接合性の消失 (LOH) 解析, がん抑制遺伝子 *Ikaros* (11 番染色体) および *Pten* (19 番染色体) の mRNA 発現解析, 突然変異解析, タンパク質発現解析, 網羅的なゲノムのコピー数変化の解析を行った。T リンパ腫の発生率は、幼若期照射群, 思春期照射群, 成体期照射群の 3 群間での統計学的な有意差はなかった。しかし、誘発された T リンパ腫における 4 番染色体と 11 番染色体の LOH 頻度は成体期群において最も高頻度であったのに対して、19 番染色体の LOH 頻度は幼若期群において最も高頻度であった。LOH 頻度と同様、*Ikaros* (11 番染色体) の突然変異頻度は成体期群において最も高かったが、一方 *Pten* (19 番染色体) の突然変異頻度は、幼若期群において最も高かった。ゲノムコピー数変化の解析の結果、成体期群では、11 番染色体の欠失が *Ikaros* の LOH に関与しており、それに対して、幼若期群では、19 番染色体におけるゲノムコピー数の変化を伴わない、有糸分裂組換えまたは染色体不分離によって形成されと考えられる LOH が特徴的であった。これらの結果から、放射線誘発 T リンパ腫形成に関与する遺伝子が被ばく時年齢によって異なり、特に、*Pten* の突然変異とそれに続いて起こる有糸分裂組換えあるいは染色体不分離による LOH が、若齢期被ばく後の T リンパ腫形成に強く関与する可能性が示唆された。

以上の結果を踏まえ、*Pten* の突然変異および有糸分裂組換えあるいは染色体不分離を介した LOH が、幼若期被ばくマウスにおける T リンパ腫の発症に関与する理由として、以下の 2 つの仮説を立てた。①幼若期の胸腺細胞では、放射線照射後の DNA 修復時に組換え修

復が行われる G2 期停止を優先して用いる,あるいは照射後の胸腺の回復時において,細胞増殖レベルが高く,有糸分裂組換えを起こす可能性が高い.②幼若期に放射線照射された胸腺細胞では,成体期に比べて,PTEN が制御する PI3K-AKT 経路の活性化レベルが高い.これらの仮説を検証するために,発がん実験と同じ照射方法でマウスに放射線を照射し,放射線照射後 2 週間までの胸腺について,胸腺細胞の各分化段階における細胞周期の分布,並びに PI3K-AKT 経路の活性化の指標として AKT のリン酸化レベルを解析した.その結果,DNA 修復が行われると考えられる照射直後(照射後 1~24 時間)の細胞周期制御に被ばく時年齢に依存した相違は見られなかった.しかし,すべての分化段階において,胸腺細胞が回復する時期のサイクリング細胞(SおよびG2/M期の細胞)の割合が高い傾向が見られ,特に CD4, CD8 ダブルポジティブ(DP)細胞において有意に高かった.面白いことに,両照射群において胸腺細胞が回復する時期(照射後 2~4 日)の AKT のリン酸化は,DP 細胞においてのみ観察され,AKT のリン酸化を示した細胞の割合は,幼若期照射群において有意に高かった.これらの結果は,DNA 修復を行う時期(胸腺細胞数が激減する時期)の細胞周期制御に被ばく時年齢に依存した違いはないが,放射線照射後,胸腺が回復する時期の細胞増殖活性は,特に DP 細胞において幼若期被ばく後の方が高く,その細胞増殖は PTEN が制御する PI3K-AKT 経路に依存する可能性を示唆する.

全体をまとめると,放射線照射後の DP 細胞の回復に PI3K-AKT 経路を用いる幼若期では,*Pten* の突然変異をもつ細胞が生存あるいは増殖しやすく,がん化する上で有利な性質を獲得したために,幼若期照射後に *Pten* の突然変異をもつ T リンパ腫が高い頻度で観察された可能性が示唆された.本研究は,放射線誘発 T リンパ腫において,原因遺伝子とその不活化の様式が被ばく時年齢に依存して異なることを示した最初の報告である.