

全ゲノムシーケンスを用いた放射線の継世代影響の解析

佐藤 康成 内村 有邦
Satoh Yasunari Uchimura Arikuni

1. はじめに

親の放射線被ばくにより次世代の子どもにどのような影響があるかを理解することは、放射線の生体影響を考えるうえで重要な問題である。近年のシーケンス技術の発展により、放射線被ばくの影響を全ゲノムレベルで捉えることが可能になった。本稿では、筆者らが行ったマウスモデルを用いた全ゲノムシーケンス解析の結果¹⁾を中心に、放射線被ばくの継世代影響の解析について、最新の研究動向を紹介したい。

2. 背景

放射線は二重鎖切断等の様々な DNA 損傷を引き起こす。これらの DNA 損傷が突然変異の原因となる。放射線被ばくの遺伝的影響の解析では、親の生殖細胞に生じる突然変異の影響を理解することが重要な問題となる。これまでの原爆被爆者の子ども（被爆2世）を対象とした研究では、死産、奇形等の出生時の異常²⁾、染色体異常²⁾、死亡率³⁾、がん罹患率⁴⁾、生活習慣病の有病率⁵⁾等が調査されてきたが、親の被ばくの影響は観察されていない。また、DNA の調査も行われ、リピート配列（ミニサテライト領域やマイクロサテライト領域の一部）の変異解析や^{6,7)}、2次元電気泳動による DNA の欠失や挿入等の解析⁸⁾が行われたが、いずれも親の被ばくの影響は観察されなかった。

一方、マウスの研究では、毛色異常等の表現型の

調査から、親の被ばくにより子どもで変異体の発生頻度が増加することが明らかにされている⁹⁾。これらの表現型変異を指標にした調査は、ゲノム中のごく一部の領域（主に7つの遺伝子座）についての解析であり、ゲノム全体への放射線の影響を捉えることが必要である。

3. 全ゲノムシーケンスを利用したこれまでの解析

近年、DNA 配列を大量に解読する技術の発展が進み、ヒトやマウスで全ゲノムの塩基配列解読（全ゲノムシーケンス [WGS]）も可能になった（2020年現在で1検体10万円前後）。これまでに長崎大学の研究グループにより、原爆被爆者家族の WGS を用いた解析が行われている。塩基置換型変異（**図 1a**）と構造変異に限って調査が行われたが、解析された家族の数が3例と限られていたこともあり、親の被ばくによる影響があるかどうか結論には至っていない¹⁰⁾。

一方、マウスモデルを用いた解析では、父親被ばくの影響が解析されており、精子の時期に3 Gy (X線) を被ばくした父親から生まれた子どもの調査が行われた。その結果、子どもで新規に発生する塩基置換の数は、親の被ばくがない対照群と比べて差がないが、挿入欠失変異（DNA 配列への挿入変異と欠失変異、**図 1a**）とマルチサイト変異（複数の塩基置換や挿入欠失で構成される変異）の発生数は増加していた¹¹⁾。しかし、ここでどのような挿入欠失変異が増加したのかは報告されていない。また、放射線

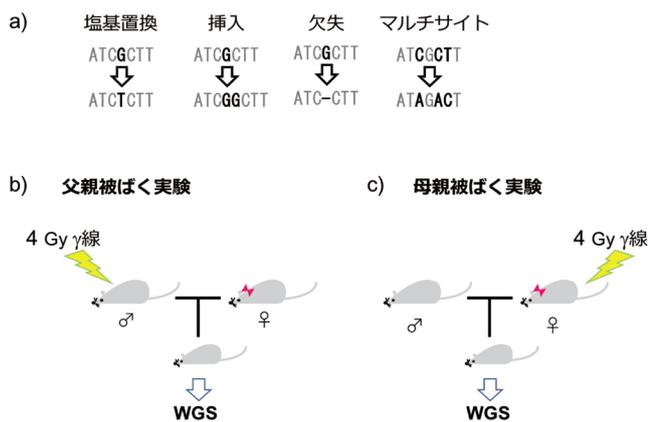


図1 本研究の概要

a) 解析対象とした突然変異の種類。b) 父親被ばく実験では、照射された精原細胞由来のマウスの子どもを得るために、雄マウスに照射後、16週後に雌マウスと交配させた。c) 母親被ばく実験では、雌マウスに照射後、雄マウスと交配させた。それぞれの実験で子どもとその両親についてWGSを行い、子どもに発生した新規突然変異を調べた

被ばくのモデルを考えるうえでは、精子形成過程の幹細胞である精原細胞の時期に被ばくした場合について理解することがより重要である。更に、母親被ばくの影響についても調べることは重要である。

4. 全ゲノムシーケンスを用いた父親被ばくと母親被ばくの影響の解析

筆者らは、父親の精原細胞への被ばくのモデルとして、¹³⁷Cs γ線源により4 Gyを雄マウスに照射し、その16週後に雌と交配することで、精原細胞の時期に被ばくしたマウスの子どもを得た(図1b)。母親被ばくのモデルでは、雌マウスに4 Gy照射後すぐに雄と交配を行い、子どもを得た(図1c)。それぞれの実験で、照射後の子ども(6匹)と非照射群の子ども(6匹)を解析することで、子どもで新規に発生した突然変異を調べた¹⁾。

父親被ばく(精原細胞)と母親被ばくのいずれの場合も、先行研究(精子への被ばく)と同様に、塩基置換の発生数は増加せず、挿入欠失変異とマルチサイト変異の発生数は増加していた(表1)。

被ばく群では、繰り返し配列上で生じた変異に加えて、欠失した配列の切断点部分にマイクロホモロジーと呼ばれる2~3塩基程度の相同性を持つ欠失変異が多く認められた(図2)。DNA二重鎖切断の修復過程では、非相同末端結合と呼ばれる経路で修復された場合に、マイクロホモロジーを示す欠失を

表1 マウスの子どもの誘発された新規突然変異の数

	マウス1匹あたりの新規突然変異の数(95%信頼区間)		
	非被ばく群 (自然突然変異)	父親被ばく群 (4 Gy 照射)	母親被ばく群 (4 Gy 照射)
塩基置換	19 (16, 23)	-	-
挿入欠失	1.9 (1.0, 3.2)	+9.6 (+5.3, +14.2)	+4.7 (+1.5, +8.0)
マルチサイト	0.3 (0.04, 1.1)	+2.5 (+0.03, +4.5)	+3.1 (+0.9, +5.0)

マウス常染色体における新規突然変異の数を示す。父親又は母親への4 Gyの被ばくにより、自然突然変異に上記の数の変異が加算される

生じることが知られている¹²⁾。今回見つかったマイクロホモロジー型の欠失は、放射線に起因する二重鎖切断により生じたものと考えられる。

一方、複数の変異が近接した領域に生じたマルチサイト変異の特徴として、GからTへの塩基置換が多く含まれていた。GからTへの塩基置換は、グアニン(G)の酸化により生じると言われている。放射線被ばくは、酸化的損傷を含む複数のDNA損傷を近接した領域に生じる、クラスター損傷を発生させることが知られている¹³⁾。マルチサイト変異は、このようなクラスター損傷から生じた可能性がある。

父親又は母親への4 Gyの被ばくにより、子どものマウスのゲノム中に誘発された変異の数は挿入欠失変異で5~10か所、マルチサイト変異で約3か所であった(表1)。4 Gyの被ばくでは、約160か所の二重鎖切断と、約500か所のクラスター損傷を生じることが知られている¹³⁾。親の生殖細胞に生じるこれらの損傷のほとんどは正しく修復されるが、一部は欠失変異やマルチサイト変異として子どもに遺伝すると考えられる。

5. まとめと今後の展望

筆者らの解析では、父親、又は母親への被ばく(4 Gy)により、子どものゲノム中に、約10か所の変異が誘発されることが明らかになった。ヒトの場合、放射線被ばくがなくても1世代当たり平均して約70か所の変異が発生することが知られている。また、子の出生時の親の年齢が1年増えるごとに、子どもの変異の数が約2か所増加することも知られている¹⁴⁾。ヒトとマウスで同じように変異が誘発されるかどうかは分からないが、ヒトの影響を考えるには、これら自然発生する変異の影響も踏まえて評価していく必要がある。

今回の解析では、塩基置換や挿入欠失等比較的小

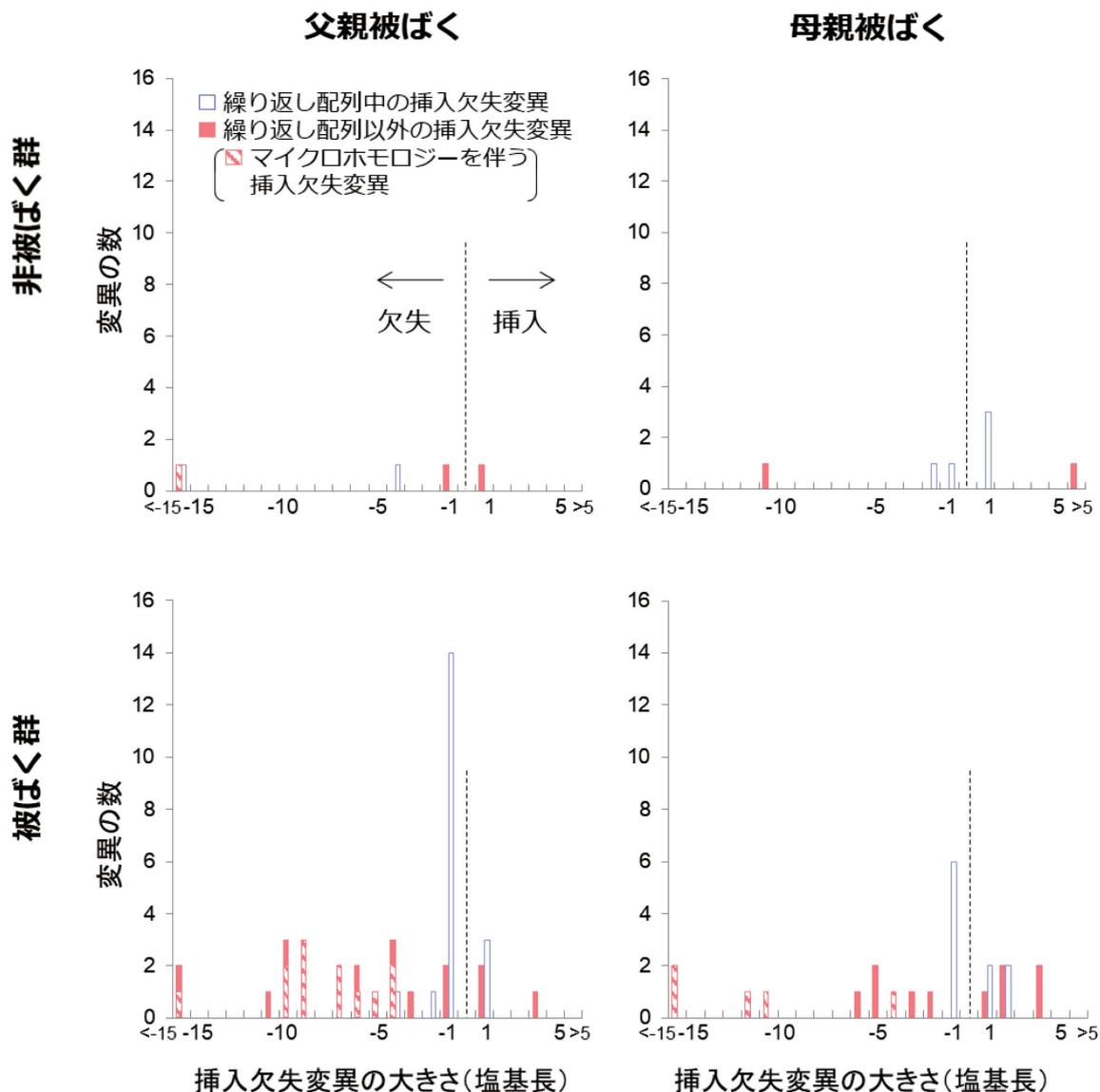


図2 欠失変異と挿入変異のサイズ分布

規模な変異を主な解析対象としており、30塩基を超えるような変異については十分な解析ができていない。放射線により生じる二重鎖切断は、転座や逆位等のゲノムの構造異常を引き起こすことが知られている。今後は、そのようなゲノム構造異常まで含めて解析することで、放射線の継世代影響の全体像を明らかにしていきたい。

参考文献

- 1) Satoh. Y., *et al.*, *Sci Rep.*, **10**, 37 (2020)
- 2) Nakamura. N., *et al.*, *Annu Rev Genet.*, **47**, 33-50 (2013)
- 3) Grant. E.J., *et al.*, *Lancet Oncol.*, **16**, 1316-1323 (2015)

- 4) Izumi. S., *et al.*, *Br J Cancer.*, **89**, 1709-1713 (2003)
- 5) Fujiwara. S., *et al.*, *Radiat Res.*, **170**, 451-457 (2008)
- 6) Kodaira. M., *et al.*, *Radiat Res.*, **162**, 350-356 (2004)
- 7) Kodaira. M., *et al.*, *Radiat Res.*, **173**, 205-213 (2010)
- 8) Asakawa. J., *et al.*, *Radiat Res.*, **161**, 380-390 (2004)
- 9) Searle. A.G., *Adv Radiat Biol.*, **4**, 131-207 (1974)
- 10) Horai. M., *et al.*, *J Hum Genet.*, **63**, 357-363 (2018)
- 11) Adewoye. A.B., *et al.*, *Nature commun.*, **6**, 6684 (2015)
- 12) Chang. H.H.Y., *et al.*, *Nat Rev Mol Cell Biol.*, **18**, 495-506 (2017)
- 13) Sage. E., and Shikazono. N., *Free Radic Biol Med.*, **107**, 125-135 (2017)
- 14) Jonsson. H., *et al.*, *Nature*, **549**, 519-522 (2017)

((公財)放射線影響研究所・分子生物科学部)