

7.3 低線量放射線のがん関連遺伝子に与える影響調査

7.3.1 低線量率 γ 線連続照射マウスに生じた悪性リンパ腫の遺伝子解析

Analysis of Gene Expression and DNA Copy Number in Malignant Lymphomas Developed in Mice Continuously Exposed to Low-Dose-Rate Gamma-Rays

藤川 勝義, 田中 聡, タカ イグナシヤ III ブラガ, 一戸 一晃, 小木曾 洋一, 田中 公夫
生物影響研究部

Katsuyoshi FUJIKAWA, Satoshi TANAKA, Ignacia BRAGA-TANAKA III, Kazuaki ICHINOHE,
Yoichi OGHISO, Kimio TANAKA
Department of Radiobiology

Abstract

We previously found that life-shortening in B6C3F1 mice continuously irradiated at a low-dose rate (LDR; 20 mGy/22h/day) accumulating to a high dose of 8000 mGy for about 400 days was due to early death from a variety of neoplasms including malignant lymphomas (MLs). In this study, we investigated changes in gene expressions of 20 MLs from both irradiated and non-irradiated control mice using a microarray to characterize gene expression profiles of MLs induced by continuous LDR irradiation. Hierarchical clustering analysis on genes relating to cell growth and cell death could identify a group of MLs named group A (total 11 MLs; 9 from 20 irradiated and 2 from 20 non-irradiated mice), which had a specific gene expression profile characterized by up-regulation of genes of cell surface receptors linked to signal transduction such as *Alk*, *Cd30*, and *Il2ra*. The array-based comparative genomic hybridization (aCGH) analysis on these MLs showed that the gain region including the *Il2ra* gene on chromosome 2 was observed more frequently in group A than non-A group MLs. These results suggest that alterations of expression and DNA copy number of *Il2ra* gene might be the main contributors to development of group A MLs.

1. 目的

低線量放射線生物影響実験調査（寿命試験；平成7-15年度）では、低線量率（21 mGy/22h/day） γ 線を約400日間連続照射（集積線量8000 mGy）したB6C3F1マウスで悪性リンパ腫等による早期の腫瘍死とそれによる寿命短縮が認められ、低線量率 γ 線長期連続照射により早期のがんが発生、あるいは早く進展した可能性が示唆された(Tanaka *et al.* 2003; Tanaka *et al.* 2007)。

本調査ではこのような低線量率 γ 線長期連続照射マウスにおける早期腫瘍死の仕組みについての情報を得るため、低線量率（20 mGy/22h/day） γ 線を長

期連続照射したB6C3F1マウスに生じた悪性リンパ腫の全遺伝子について網羅的な遺伝子発現量の変化の解析、及びマウス全染色体（20対）の約2万箇所についてゲノム異常（コピー数の欠失や増幅）の解析を行った。

2. 方法

8週齢のSPF B6C3F1メスマウス（C57BL/6N/Jcl × C3H/HeN/Jcl）に低線量率¹³⁷Cs- γ 線連続照射（20 mGy/22h/day、400日間で集積線量8000 mGy）を行った。低線量率 γ 線照射群、非照射群共に毎週1回、健康状態の観察を行って悪性リンパ腫が疑わ

れたマウスを剖検し、悪性リンパ腫に侵襲されたリンパ節を採取・凍結保存した。悪性リンパ腫試料 40 検体（非照射群 20 検体、照射群 20 検体）から mRNA を抽出し、マイクロアレイ法により照射群と非照射群の遺伝子発現量を比較した。また、オリゴアレイ CGH（比較ゲノムハイブリダイゼーション）法によってゲノム異常を両群間で比較し、照射群で有意にゲノムコピー数の増減が多い染色体領域を検出した。また、より高い線量率の γ 線連続照射マウスに生じた悪性リンパ腫のゲノム異常が、低線量率連続照射マウスと非照射マウスに生じた悪性リンパ腫のゲノム異常と異なるかを調べるために、中線量率 γ 線照射実験（200 mGy/22h/day、40 日間で集積線量 8000 mGy）を行った。

3. 成果の概要

・照射群と非照射群の悪性リンパ腫試料 40 検体について、細胞増殖と細胞死に関わる遺伝子に着目し、遺伝子発現プロファイルに基づいて悪性リンパ腫の分類（階層型クラスタリング）を行い、*Alk*, *Cd30*, *Il2ra* 等の細胞表面レセプター遺伝子の高発現をはじめ、その下流にあるシグナル伝達やアポトーシス等に関わる遺伝子群の発現量が有意に増減している悪性リンパ腫の一群（以下 A 群悪性リンパ腫と呼ぶ）を検出することができた。

・この A 群悪性リンパ腫は照射群 20 検体中 9 検体（45%）、非照射群 20 検体中 2 検体（10%）で合計 11 検体にみられ、照射群に有意に多かった ($p < 0.05$)。また、A 群悪性リンパ腫を採取した時点のマウスの日齢の中央値（785.5 日）は、統計学的には有意ではないが A 群以外の悪性リンパ腫（864.3 日）より 78.8 日早く ($p = 0.079$)、これは A 群悪性リンパ腫が早期に生じることを示すのかもしれない。

・オリゴアレイ CGH 解析の結果から、照射群に多い A 群悪性リンパ腫では 2 番染色体の動原体近傍の領域の増幅が多くみられ、この増幅領域には *Il2ra* 遺伝子が含まれていた（Fig. 1 中 2 番染色体の黒枠で囲んだ部分）。

・以上より、低線量率 γ 線長期連続照射によって A 群悪性リンパ腫が早期に生じたのかもしれない。

・低・中線量率 γ 線長期連続照射マウスと非照射マウスに生じた悪性リンパ腫のゲノムには共通した異常領域が多くみられるが、線量率が増えるに従って照射群に特有の異常領域が増加することが分かった（Fig. 2）。

引用文献

Tanaka, S. *et al.* (2003) *Radiat. Res.* **160**: 376-379.

Tanaka, I. B. III *et al.* (2007) *Radiat. Res.* **167**: 417-437.

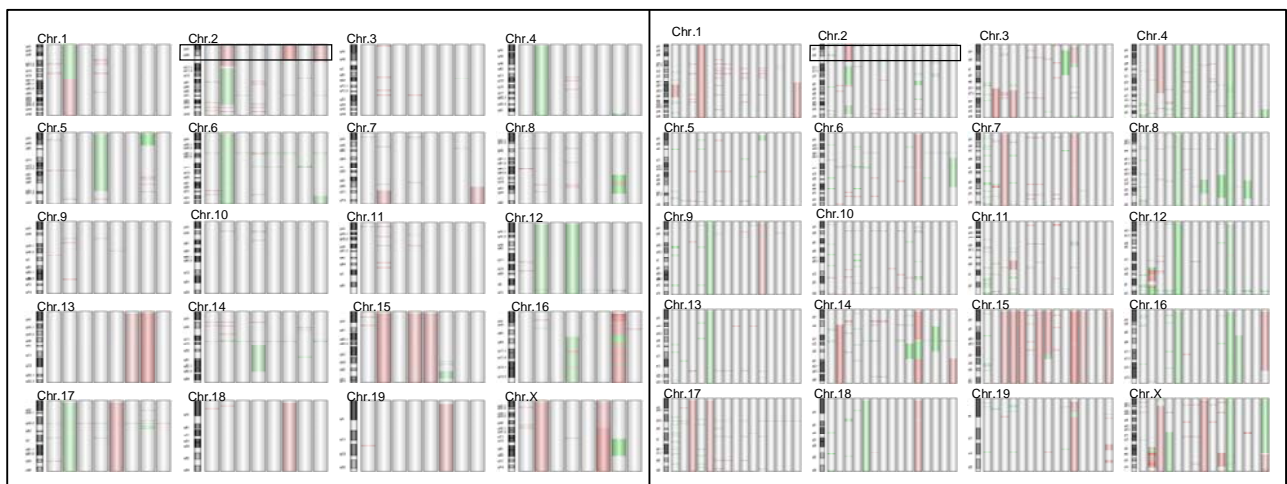


Fig. 1 Comparison of aCGH results in group A (left panel, n=8) and non-A group MLs (right panel, n=15).

DNA copy numbers of MLs are shown in order of chromosome (Chr.) 1 to 19 and X. Red: loss, green: gain.

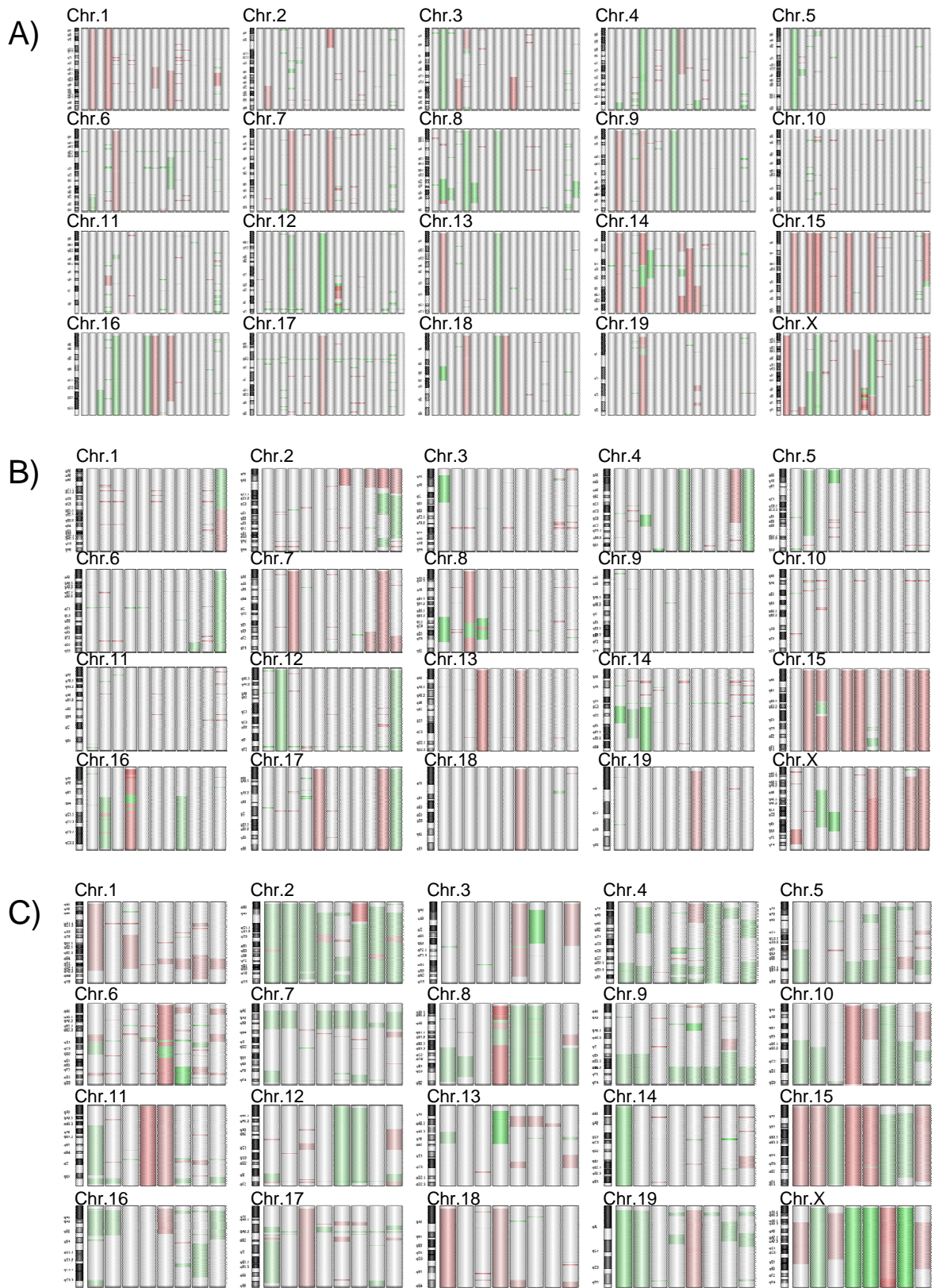


Fig. 2 Comparison of aCGH results of MLs from A) non-irradiated mice (n=19), B) low-dose-rate (20 mGy/22h/day) γ -ray-irradiated mice (n=11), and C) middle-dose-rate (200 mGy/22h/day) γ -ray-irradiated mice (n=8). DNA copy number of MLs are shown in order of chromosome (Chr.) 1 to 19 and X. Red: loss, green: gain.