

ヒト血清アルブミンの酸化修飾を 活用した放射線の線量評価

弘前大学大学院保健学研究科

特任教授 柏倉幾郎

助教 山口 平

2023年3月14日

従来技術とその問題点

- 放射線の生体内の標的は「細胞核」とされ、多くの評価は核やDNAの損傷に注力されている。
- リンパ球による「染色体異常解析」はGold standardとして国際標準法に採用されているが、高い専門性と数日の時間を要し、500 mSv以下の低線量域評価には不向きである。
- 現時点では精確・迅速かつ大規模に生物学的線量評価が可能な方法は無い。

新技術の特徴・従来技術との比較

- インドネシア高線量自然放射線地域(平均≒50 mSv, 日本の平均自然放射線2.1 mSvの約24倍)住民の血液解析から、被ばく線量と相関する血清アルブミンの酸化修飾配列を見出した。
- 放射線被ばくの「痕跡」が血清アルブミンに残るという発見は新たな知見である。
- 100 mSv以下の低線量域における生物応答を評価しうる可能性を示した点は革新的である。

自然・人工放射線からの被ばく線量

自然放射線 (日本)

宇宙から
0.3mSv



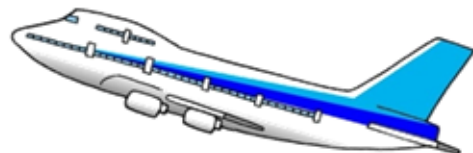
食物から
0.99mSv



空気中の
ラドン・トロン
から
0.48mSv

大地から
0.33mSv

自然放射線による年間線量 (日本平均) 2.1mSv
自然放射線による年間線量 (世界平均) 2.4mSv



東京～ニューヨーク
航空機旅行 (往復) 0.11～
0.16mSv

人工 放射線



CT検査 (1回) 2.4～12.9mSv



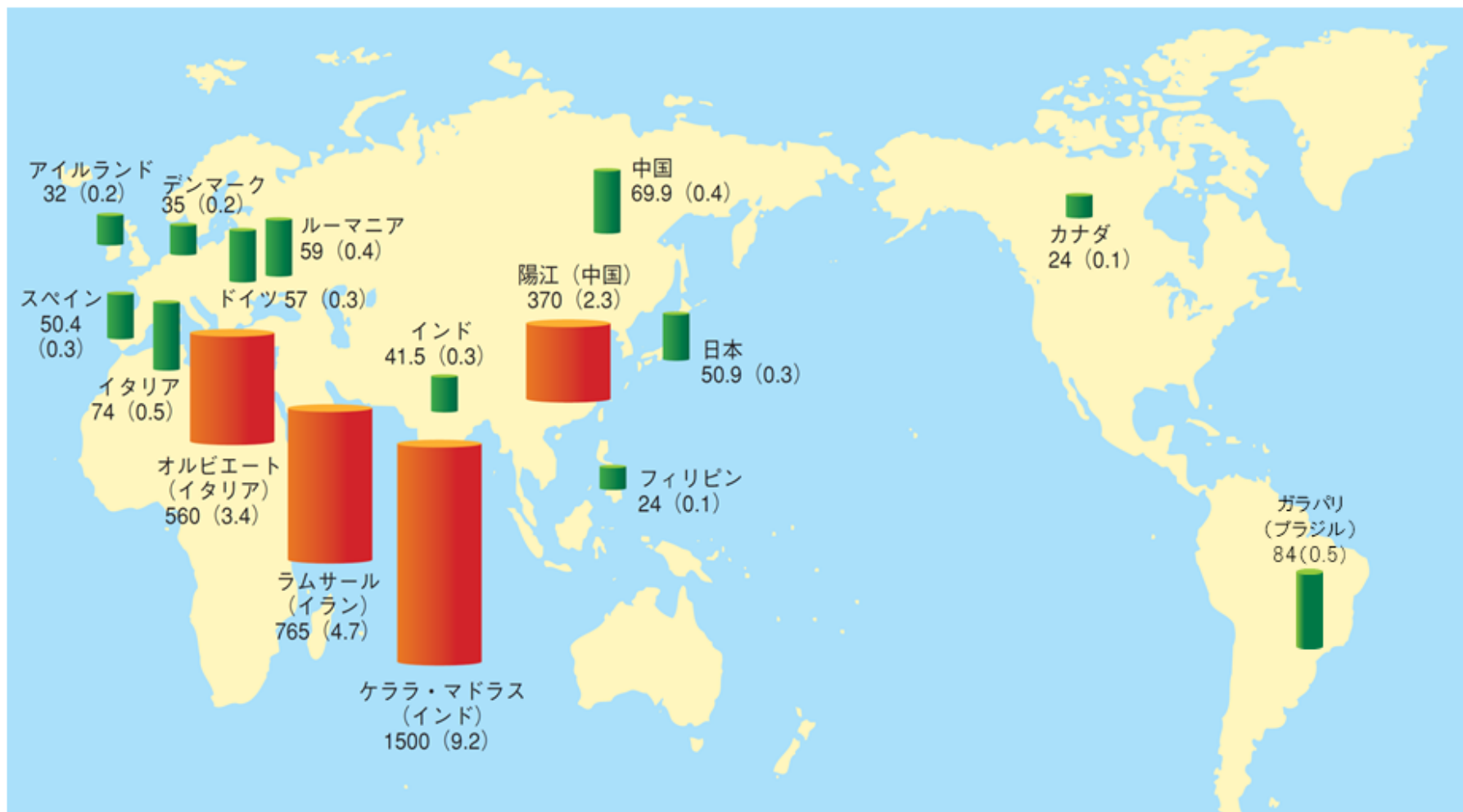
胸部X線検査 (1回) 0.06mSv

mSv : ミリシーベルト

出典 : 国連科学委員会 (UNSCEAR) 2008年報告、
原子力安全研究協会「新生活環境放射線 (2011年)」、ICRP103 他 より作成

大地の放射線(世界)

ナノグレイ/時 (ミリシーベルト/年)
実効線量への換算には0.7シーベルト/グレイを使用



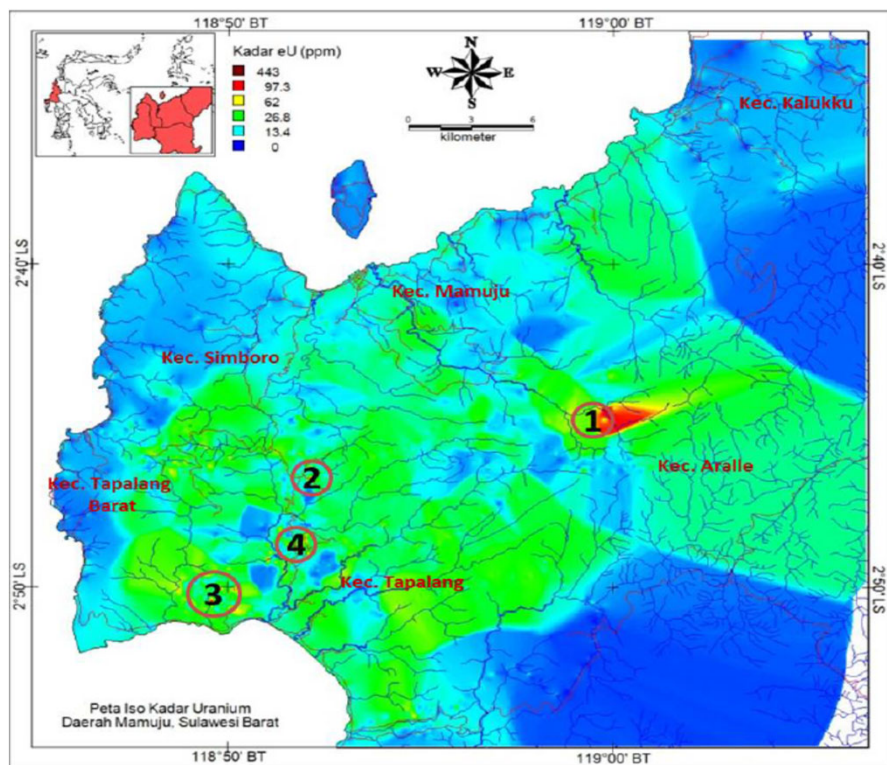
出典：国連科学委員会 (UNSCEAR) 2008年報告書、
(公財) 原子力安全研究協会「生活環境放射線」(2011年)より作成

新たに見出された高自然放射線地域



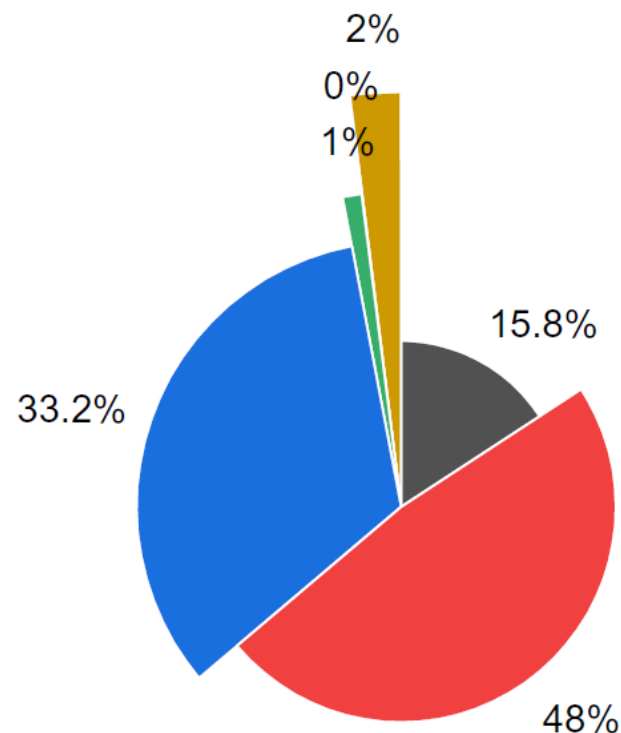
2014年インドネシア国家原子力庁は、西スラウェシ州マムジュ地区
(**赤矢印**)での陸域放射線による高レベルの線量率を報告した。

スラウェシ島マムジュ地区



スラウェシ島マムジュ地区

- ① タンデタンデ村：33.5 – 60.5 mSv/年
平均=49.6 mSv/年
- ② ボッテン村：2.93 – 14.89 mSv/年
- ④ タカンディア村：4.14 – 5.87 mSv/年

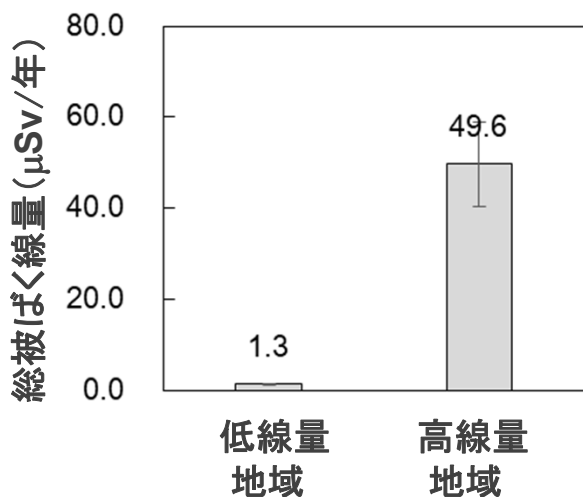


- 外部被ばく
- ラドン
- トロニウム
- 飲用水のラドン
- 飲用水のラジウム
- 食物中の放射性物質

住民の採血から血清の解析

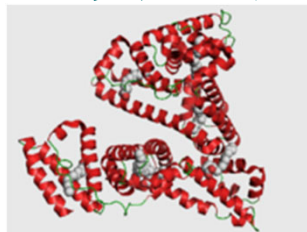


住民からの採血 (各26人)
トポヨ村 (低線量地区)
タンデタンデ村 (高線量地区)



プロテオーム解析 (医学研究科)
nanoLC Eksigent 400/TripleTOF6600
システム (AB Sciex) (LC-MS/MS)

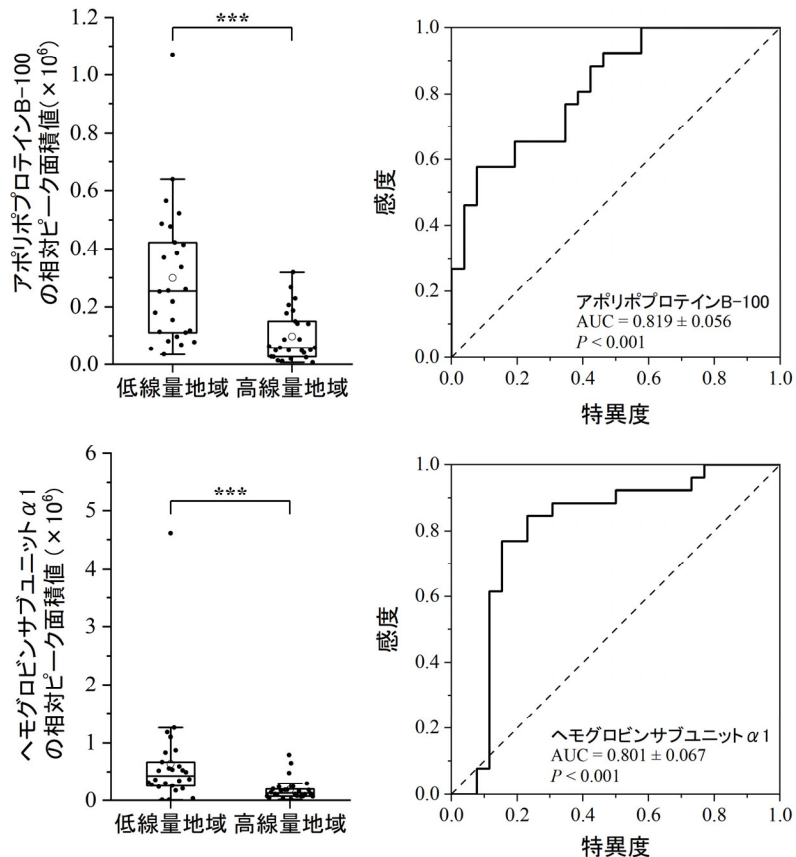
酸化修飾応答解析



血清アルブミン (HSA) の立体構造

含有タンパク質の定量

ヒト血清アルブミンの酸化修飾解析



```

1 MKWVTFISLL FLSSAYSRG VFRDAHKSE VAHRFKDLGE ENFKALVLIA
                                     * *
51 FAQYLQQCPF EDHVKLNEV TEFAKTCVAD ESAENCDSL HTLFGDKLCT
   * * * * *
101 VATLRETYGE MADCCAKQEP ERNECF LQHK DDPNLPRLV RPEVDVMCTA
                                     *
151 FHDNEETFLK KYLYEIARRH PYFYAPELLF FAKRYKAAFT ECCQAADKAA
   * * * * *
201 CLLPKLDELRL DEGKASSAKQ RLKCASLQKF GERAFKAWAV ARLSORFPKA
                                     *
251 EFAEVSXLVT DLTKVHTECC HGDLLCADD RADLAKYIGE NQDSISSKLG
   * * * * *
301 ECCEKPLLEK SHCIAEVEND EMPADLPSLA ADFVESKDVC KNYAEAKDFV
   * * * * *
351 LGMFLYEYAR RHPDYSVLL LRLAKTYETT LEKCCAAADP HECYAKVFDE
   * * * * *
401 FKPLVEEPQN LTKQNCLEFE QLGEYKFNQ LLVRYTKKVP QVSTPTLVEV
   * * * * *
451 SRNLGKVGSK CCKHPEAKRM PCAEDYLSVV LNQLCVLHEK TPVSDRVTKC
                                     * * *
501 CTESLVNRRP CFSALEVDET YVPKEFNAET FTFHADICTL SEKERQIKKQ
   * * * * *
551 TALVELVKHK PKATKEQLKA VMDDFAAFVE KCCKADDKET CFAEEGKGLV
   * * * * *
601 AASQAALGL
   *
    
```

黄色 (アルギニン残基の酸化による γ -グルタミルセミアルデヒド)
 緑色 : カルボニル化 (プロリン残基の酸化による γ -グルタミルセミアルデヒド)
 紫色 (リシン残基の酸化によるアリシン)
 灰色 : ニトロ化 (チロシン残基)
 青色 : 酸化 (その他)
 * : 糖化

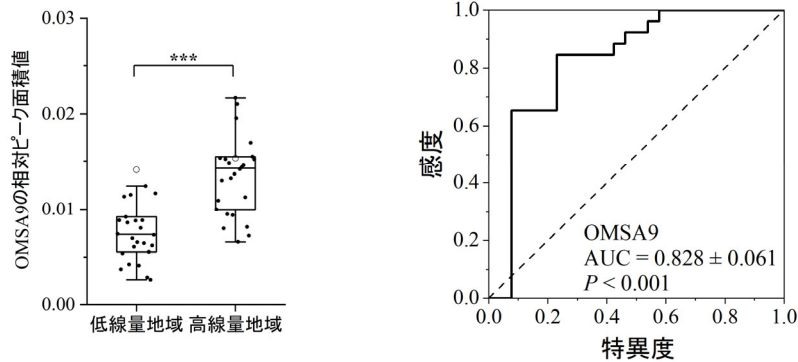
LC-MS/MSによる解析の結果、19種類のタンパク質が同定され、そのうちアポリポrotein B-100 (図上段) とヘモグロビンサブユニット $\alpha 1$ (図下段) の発現量は、高線量地域では低線量地域より有意に低かった。

アルブミン上に1155の修飾を同定し、このうち酸化修飾は270箇所だった。

ヒト血清アルブミンの酸化修飾解析

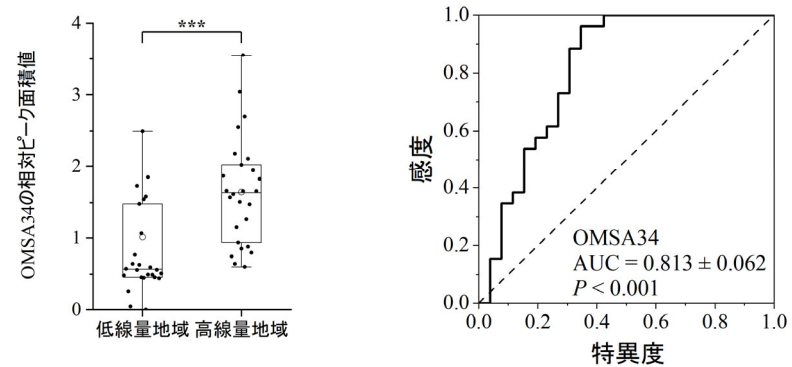
A: OMSA9

AUC = 0.828



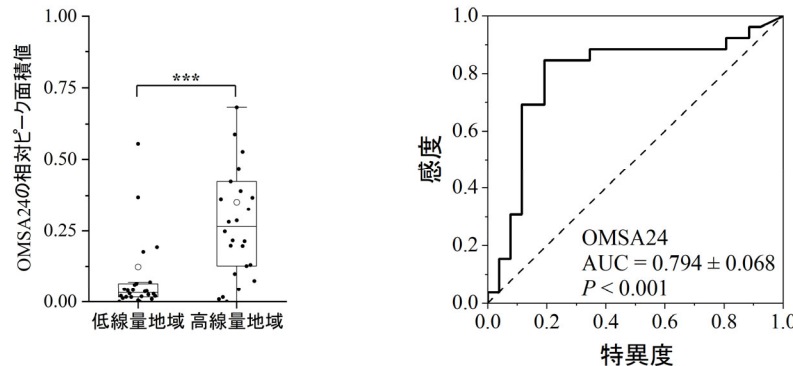
B: OMSA34

AUC = 0.813



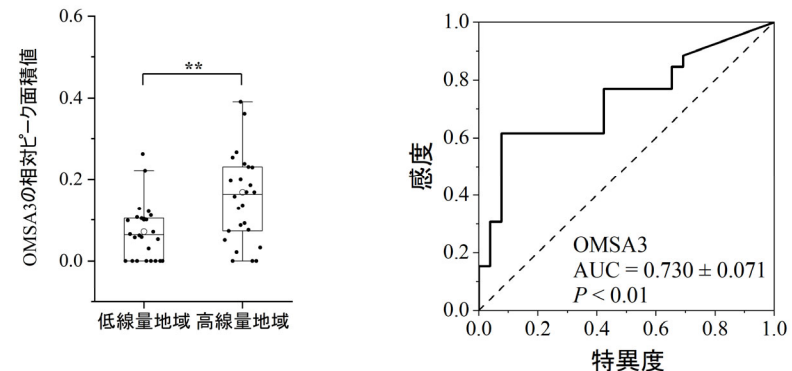
C: OMSA24

AUC = 0.794



D: OMSA3

AUC = 0.730



★ 血清タンパク質の定量

高線量放射線地区住民のApolipoprotein B-100,
Hemoglobin subunit alpha 1 が有意に低い

★ 酸化修飾応答解析

高線量放射線地区住民血清アルブミンに
38箇所 の酸化修飾HSA (OMSA)を見出した

喫煙と放射線の酸化修飾応答

表 1. 喫煙習慣と放射線被ばくの間で変動する血清アルブミンを構成するペプチド配列の酸化的修飾様式の違い

OMSA ID	ペプチド配列と修飾部位	アミノ酸残基数	修飾	修飾様式	倍率変化	有意差
02	ALVLIAFAQYLQQC[CAM]P[Oxi]FEDHVKLVNEVTEFAK	59	P[Oxi]	酸化	0.318	0.045
12	RHPYFYAPELLFFAK[LAA]	183	K[LAA]	リシン酸化	0.263	0.020
16	ADLAKY[Ntr]IC[CAM]ENQDSISSK	287	Y[Ntr]	チロシンニトロ化	0.347	0.028
38	AVM[Oxi]DDFAAFVEKC[CAM]C[CAM]K	572	M[Oxi]	酸化	0.216	0.015

注：左から順に、「OMSA (oxidative modification of serum albumin) ID」「血清アルブミンを構成するペプチド配列とその修飾部位」「ペプチド配列の残基数」「修飾タイプ」「喫煙者と非喫煙者の平均ピーク面積値の比率」「t検定による P 値」

・マロンジアルデヒド(MDA)：脂質過酸化分解生成物の一つであり、脂質過酸化・酸化ストレスマーカーの1つ

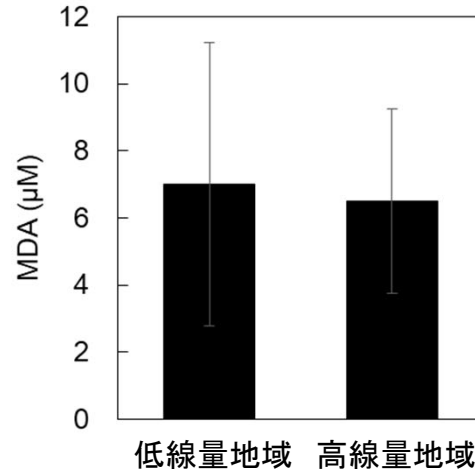
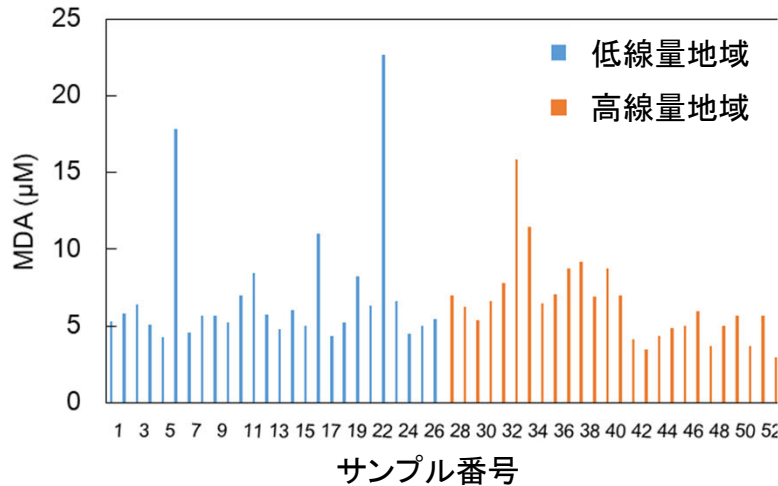


表2. MDAの上位5位と総線量との相関係数

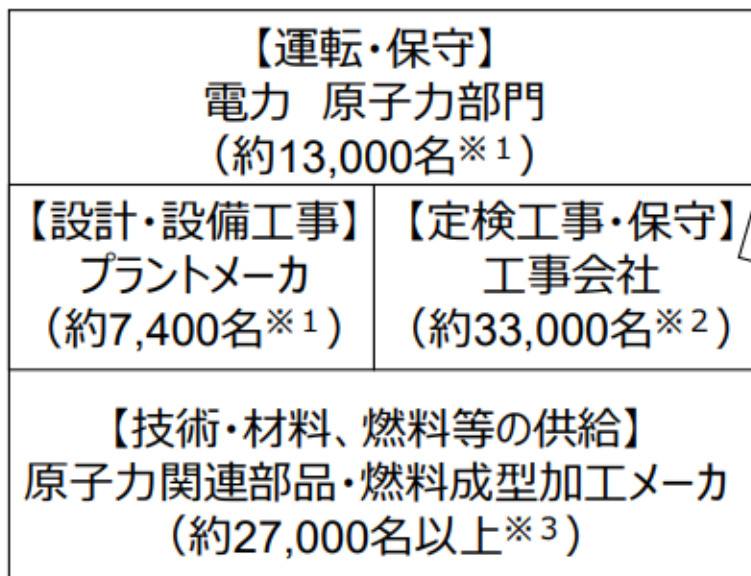
	Total Dose	MDA
MDA	0.297	-
1 OMSA22	0.288	0.637
2 OMSA4	0.293	0.603
3 OMSA36	0.346	0.590
4 OMSA6	0.420	0.563
5 OMSA27	0.020	0.558
Total Dose	-	0.297

★喫煙者の血清アルブミンの酸化修飾応答は放射線とは異なる。またMDAと個人の総有効線量との間に相関はなく、低線量慢性被曝をMDAでの検出は困難である可能性が示唆。

原子力発電に関わる人材

我が国の原子力産業界は、80,000名以上が従事している。
工事会社は、発電所のある地域ごとに存在（地元密着）。

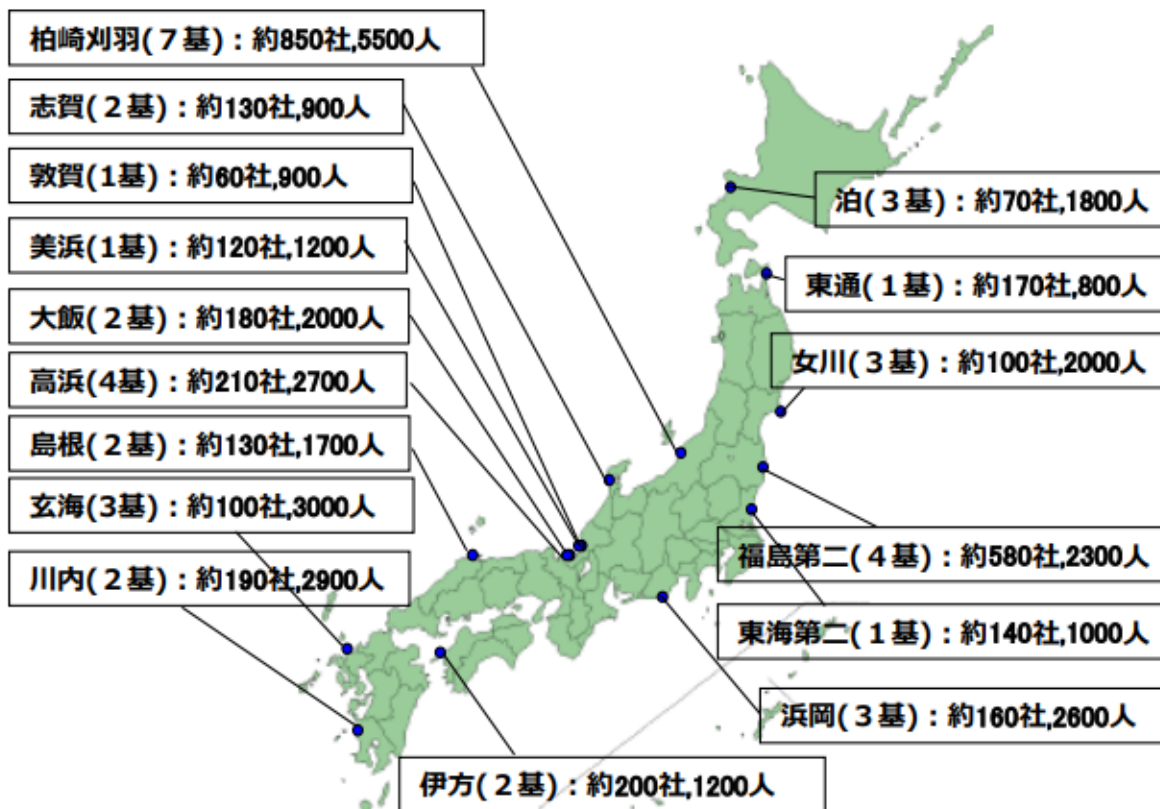
【原子力産業界の全体構造】 （合計約80,000名以上）



- ※ 1 「原子力発電に係る産業動向調査2017報告書」
一般社団法人日本原子力産業協会
- ※ 2 電気事業連合会調べ（一部プラントメーカーとの重複あり）
- ※ 3 ※ 1 データより算出

＜各発電所の工事会社数、従業員数＞

- ・工事会社は発電所のある各地域毎に存在
- ・安全確保のためには、熟練作業員の散逸を防ぐことが不可欠



電気事業連合会調べ（電力11社への聞き取り）
 : () 内の基数に廃止を決定したプラントは含まない。
 : 従業員数は、元請と一次請負会社の合計数。ただし福島第二・柏崎刈羽・東海第二は全請負会社の数。

低線量放射線被ばく影響を高精度に検出するキット 国内市場予測(年間)

対象市場	被ばく者数 (含リスク者)	測定キット 販売額	年1回測定 販売額	備考
自然高線量被ばく者	0人			
医療被ばく者	2,700,000人	2,000施設×50万円=10億円	67億5,000万円	CTのみ
原発施設関係者	80,000人	16施設×50万円=8百万円	2億円	
航空被ばく者	18,000人	10施設×50万円=5百万円	4,500万円	パイロット約6,000人 CA約12,000人
宇宙被ばく者	2人	1施設 50万円	5千円	
合計	2,798,002人	10億1,350万円	69億9500万5千円	

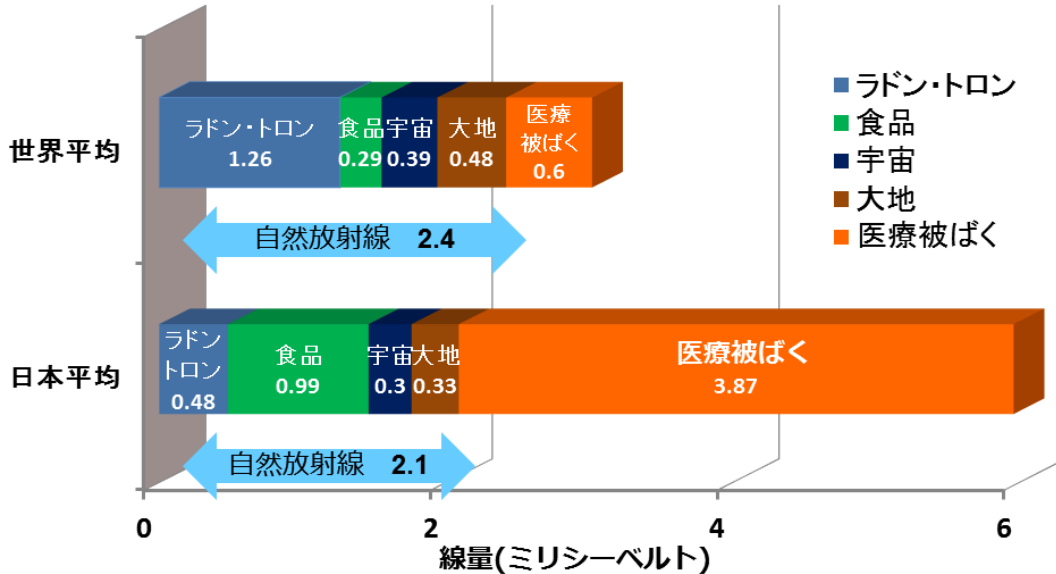
医療被ばくの現状

わが国では年間**延べ1億件以上**の放射線診断が行われ、放射線治療を受ける癌患者は年間16万人を超え、さらに増加しています。わが国の医療被ばくによる**一人あたりの実効線量は年間3.9 mSv**と推定され(図1)、自然放射線の年間被ばく線量2.1 mSvよりも多いとされています。

日本のCT装置台数は世界一で(図2)、年間約3千万件ものCT検査が行われている。一方、米国の人口あたりのCT検査件数はわが国よりもさらに多い。CT装置1台あたりの平均検査件数が少ないのが、わが国の医療の特徴。(首相官邸HP https://www.kantei.go.jp/saigai/senmonka_g65.html#03)

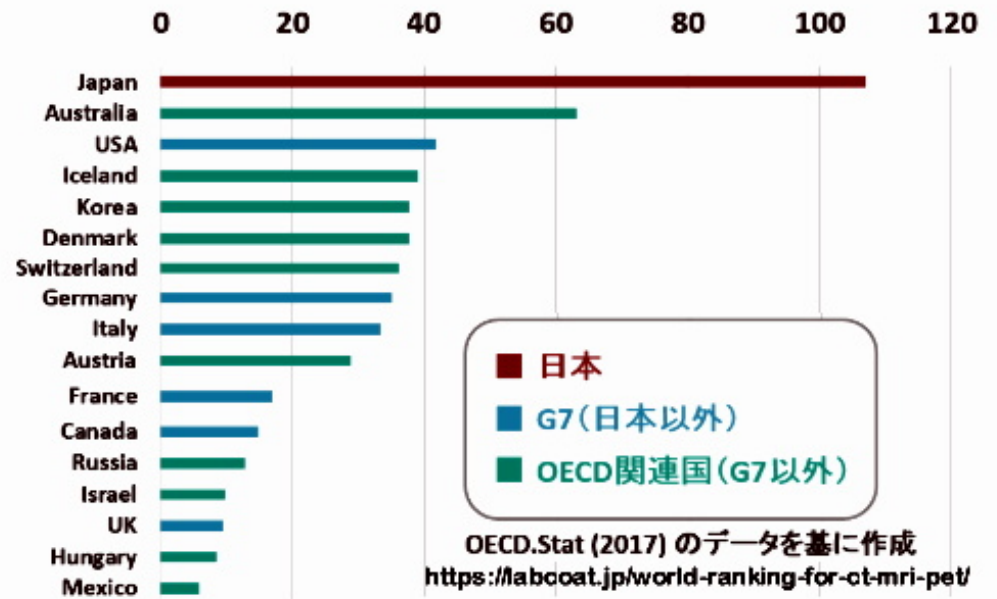
我々の調査(2011~2013年)では、医学部附属病院での全CT検査の1.2%が5歳以下であった。(Exp Ther Med, 14(5): 4515-4520, 2017)

日常生活における被ばく (年間)



出典：国連科学委員会 (UNSCEAR) 2008年報告、(公財) 原子力安全研究協会「生活環境放射線」(平成23年)より作成

100万人あたりのCT数



OECD.Stat (2017) のデータを基に作成
<https://labcoat.jp/world-ranking-for-ct-mri-pet/>

図1 年間当たりの被ばく線量の比較

図2 100万人当たりのCT数

研究成果の情報発信

Detection of biological responses to low-dose radiation in humans

Masaru Yamaguchi, Yota Tatara, Eka Djatnika Nugraha,
Dwi Ramadhani, Yuki Tamakuma, Yoshiaki Sato, Tomisato Miura,
Masahiro Hosoda, Shinji Yoshinaga, Mukh Syaifudin,
Ikuo Kashiwakura, Shinji Tokonami

Free Radical Biology and Medicine 184 196-207 2022年5月



IF=8.101

Serum Proteomic and Oxidative Modification Profiling in Mice Exposed to Total Body X-Irradiation

Masaru Yamaguchi, Yota Tatara, Eka Djatnika Nugraha,
Yoshiaki Sato, Tomisato Miura, Masahiro Hosoda,
Mukh Syaifudin, Shinji Tokonami, Ikuo Kashiwakura

Antioxidants 11(9) 1710 2022年8月30日 査読有り



IF=7.675

本発明の優位性 比較表

	本発明	染色体異常解析	特開2019-69996	特開2020-80781
構成	バイオマーカー ヘモグロビンA1および酸化修飾アルブミン	リンパ球の染色体異常検査	血漿タンパク質バイオマーカー群	遺伝子のmRNA発現量
得られる特性	低線量被ばくを検出可能	適応範囲は吸収線量で 100mGy～5G	>0.5Gyマウスモデルの遺伝子応答をもとに抽出	>0.5 Gyマウスモデルの遺伝子応答をもとに抽出
適用分野	低線量被ばくの検出	高線量被ばく放射線被ばくの確定診断	低線量での効果は確認されず	低線量での効果は確認されず
その他	ELISA測定システムを開発中	<100mSvでは個人差が顕著	発明者自身の先願	発明者自身の先願

情報発信



国立大学法人

弘前大学

迅速簡便に
放射線被ばく線量を推定できる
バイオマーカー

https://www.youtube.com/watch?v=_6hwNCLwXpl



想定される用途

- 特に100mSv以下の低線量放射線被ばくを検出可能とする優れた特徴を有する。
- 原子力産業での安全対策、鉱山労働者や航空機乗務員などの職業被ばくや医療被ばくの影響評価、核テロ対策への応用。原子力発電所の建設が進む海外での展開が期待される。
- アルブミンの酸化修飾は、酸化ストレス関連疾患（感染症、がん等）、疲労や加齢状態との関連性解明が期待される。

実用化に向けた課題

- 現在、酸化修飾ペプチドに対するポリクローナル抗体を作成して検証中であるが、特異的検出が不十分。
- 今後、CT検査前後の多発性外傷患者より採取した血清を用いて検証予定。
- 実用化に向けて、アルブミンの酸化修飾を特異的かつ迅速・簡便に検出可能な技術の確立が必要。

企業への期待

- 未解決の特異的な検出については、限外濾過での前処理、トリプシン消化やLC-MS/MSでの応用により克服できると期待している。
- **生体成分**の高い解析技術を持つ、企業との共同研究を希望。
- 新たな診断方法を開発中の企業、健康寿命延伸や加齢研究分野への展開を考えている企業には、本技術が有効である可能性が高い。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 放射線被ばくを検出するためのバイオマーカー
- 出願番号 : 特願2020-125736
PCT/JP2021/26902
- 出願人 : 弘前大学
- 発明者 : 柏倉幾郎, 山口平,
床次真司, 三浦富智,
多田羅洋太 他4名

お問い合わせ先

国立大学法人弘前大学 研究・イノベーション推進機構

リサーチアドミニストレーター (URA) :
工藤 重光、山科 則之、渡部 雄太 (東京事務所在籍)

産学官連携コーディネーター : 三上 夫美加

TEL 0172-39-3176

FAX 0172-39-3921

e-mail ura@hirosaki-u.ac.jp