

いは新生児)の組織幹細胞では DNA 修復効率が高い、あるいは損傷細胞を排除する活性が高い可能性を示している。通常、成体組織幹細胞では細胞周期が止まっていること、胎児被ばくに高頻度で観察される水頭症で DNA 損傷頻度が非照射群より低いことから、ゲノム損傷を受けた神経幹細胞は組織中から排除されている可能性が示唆される。

V 結論

低線量率(1.75Gy/min)照射 2~3Gy で生体内の神経幹細胞中に DNA 損傷が認められた。より低い線量、線量率での検出を可能とするため、検出系の高感度化が必要となる。成体と胚(あるいは新生児)の放射線応答性が異なることが示された。今後、低線量域でも同様の違いが観察されるのか、否かを検討する。また、その違いの生じる機構解明を行う。

VI 次年度以降の計画

より低線量・低線量率での DNA 損傷観察を可能とするため、フローサイトメトリー法の高感度化を行う。また、成体と胎児の神経幹細胞でみられるゲノム損傷応答の違いが、低線量域でも観察されるか、否か実験を行う。さらに、発生過程でみられるゲノム損傷抑制機構が、傷ついた神経幹細胞の排除で説明できる可能性について検証する。

この研究に関する現在までの研究状況、業績
特になし。

引用文献

特になし

The accumulation of DNA damage in neural stem cell by low dose irradiation

Kazunori Shiraishi^{*1}, Seiji Kodama^{*1}

*^{*1}Laboratory of Radiation Biology, Department of Biological Science, Graduate School of Science, Osaka Prefecture University.*

Keywords: neural stem cell, CD133, gamma-H2AX, chromosome aberration

A somatic stem cell has the specific roles to maintain and repair tissue in a living organ. Because of the characteristics, damage in stem cell may be accumulated by long-term exposure of low dose radiation. However, the influence of the stem cell after low dose irradiation has not been elucidated. In this study, to assess the influence of the radiation on a neural stem cell (NSC) which is one of tissue stem cells *ex vivo*, we verified the accumulation of DNA damage response and chromosome aberration. In previous study, we showed that increase of DNA damage caused by acute irradiation (500mGy/min) has dose dependency in adult mouse NSC *ex vivo*. In this study, we tried to elucidate whether this dose-dependency appear in low dose rate irradiation (~2mGy/min) or not. We estimated DNA damage of NSC harvested from mouse which was exposed to chronic radiation (1.75mGy/min). The frequency of gamma-H2AX foci increased at 2~3 Gy radiation accumulation. Furthermore, using pregnant mouse, it was revealed that DNA damage response differed between adult and developmental NSC. In both of gamma H2Ax focus and FISH analysis, even if six week had passed after irradiation, DNA damage was observed in adult NSC. However, not in embryonic NSC. Especially, in hydrocephalus mouse, which occurred high frequently (20%~) in this radiation dose, DNA damage was less than background.

低線量放射線は心血管疾患発症の原因と成りうるか？ —動物実験による検証—に関する研究

丹羽 保晴 (公益財団法人 放射線影響研究所・副主任研究員)

研究要旨

原爆被爆者に代表される高線量被曝した集団で、放射線被曝が心血管病変のリスクの上昇と相関していると報告されている。本研究では、モデル動物(SHR; 高血圧自然発症ラットおよび SHRSP; 脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット)を用いた実験により上記エビデンスを検証するとともに、低線量放射線被曝でも同様な結果が見られるかを検証する。指標としては、SHRSP を用いた実験では脳卒中様症状の発症時期または寿命を、一方、SHR では血圧値の上昇時期およびプラトーに達した際の血圧値を用いる。また、両系統のラットを病理検索することにより、線量と病理形態学的、生理学的変化との相関を調べる。更に、原爆被爆者の調査の結果を基に選んだ血液バイオマーカーを指標として用いることにより放射線が如何なる機序で心血管病変をもたらすかを明らかにする。これらのデータを総合して、放射線量と心血管病変との関係および放射線がいかんして心血管病変を起こすか、その機序について調べる。その結果より、線量の増加と病変の発症とがどのような関係にあるかを解明すると共に心血管病変と有意に相関する最低線量(閾値)が存在するか否かを検証する。

キーワード：動物モデル、高血圧、脳卒中、心疾患、放射線影響、放射線被曝

研究者協力者・高橋 規郎・公益財団法人 放射線影響研究所 顧問

- ・ 大石 和佳・公益財団法人 放射線影響研究所 部長代理
- ・ 三角 宗近・公益財団法人 放射線影響研究所 研究員
- ・ 村上 秀子・公益財団法人 放射線影響研究所 来所研究員

I 研究目的

放射線の被曝線量の増加と心血管病変リスクの増加が相関するか否かをモデル動物を用いた実験系で検証する。さらにモデル動物における線量効果のパターン、および発症するまでの機序を解明する。

これらの結果は、福島原発事故に伴い生じた環境汚染地区の住民、その除染作業、核施設復旧作業に対する放射線防護に関して有用な情報を提供できるものと期待している。

II 研究方法

放射線影響の調査にあたっては、SHRSP をヒト循環器疾患のモデル動物として用いる。5週齢のオスのラットに 0.25 Gy、0.5 Gy、0.75Gy および 1.0 Gy のガンマ線を照射する。非照射ラットを対照群として用いる。この研究は以下の二通りの手順により実施される。1)

寿命を指標とする実験；ラット脳卒中様症状の発症時期を観察したのち自然死するまで飼育する。2) 放射線に相関する心血管病変の発生機序を推定するための実験；病理解析および血液バイオマーカー測定を実施する。これに使用する新鮮標本を得るため、ラットは一定期間(照射後8週間)飼育後、麻酔下で全血を採取し、安楽死させる。広島大学でラットの放射線照射および飼育を行い、環境科学技術研究所で病理解析を実施する。測定対象とする血液バイオマーカーは放影研で被爆者を対象として実施されている成人健康調査(AHS)で放射線量と有意な相関を示した36種である。

得られたデータはKaplan-Meier生存曲線、線形回帰モデル、Coxモデルなどを用いて統計解析を行い、低線量領域での放射線量と心血管病変との相関について推定するとともに、福島などで観測されている低線量放射線の影響について考察する。

(倫理面への配慮)

本研究は、ヒトを研究対象として行うものではない。動物実験に関しては、法令及び広島大学動物実験指針に従い、「動物の愛護及び管理に関する法律」並びに「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」に則って行うこととする。行う動物実験等は通常の実験範囲のものであり、特段、倫理的に問題のあるものとは思われない。

III 研究結果

我々は予備実験において、対照ラットに比べ、1 Gy以上を照射したラットで顕著な寿命の短縮を観察した。更に、照射ラットに観察された脳、心臓、腎臓に生じた血管炎などの病変は非照射群に比べ重篤であることを明らかにした(結果 1, 2)。従って、このモデル動物系は放射線被曝と心血管病変の相関を観察するには、最も適した系の一つと考えられる。本研究では、ネガティブコントロールとして非照射群を、ポジティブコントロールとして1 Gy照射群を、テスト線量として0.25、0.5および0.75 Gyの放射線を照射した群を用いて実験を行った。現在、寿命調査を目的とした実験が進行しており、これまでに放射線を照射したラットにおいて脳卒中様の症状発症時期が対照群に比べ有意に早まることが明らかになった。もう一つの研究テーマである、『血液中のバイオマーカーを測定し放射線が如何なる機序で心血管病変をもたらすか』を解明するための実験は血液バイオマーカーの測定条件が設定できたので解析を行う予定である。病理検索は進行中である。

IV 考察

本研究調査を通じて、0.25~0.75 Gyにおける放射線影響について興味深いデータを得つつある。この研究で、より低線量(0.25 Gy未滿)の影響の検討が可能であることが判明すれば、現在福島地域で問題になっている放射線量に関しても重要な知見が得られるかもしれない。

V 結論

本研究調査は極めて高感度で放射線の心血管系への影響を調べることが出来ると考えられる。

VI 次年度以降の計画

●26年度前半は、25年度に引続き SHRSP を用いて①脳卒中様症状の発症時期および寿命を指標とする実験、②バイオマーカーの測定および病理検索を行う。この実験で用いる照射線量は、0.25, 0.5, 0.75 そして 1.0Gy、各群の匹数は①では各群 25 匹、②では各群 10 匹を予定している。①では全てのラットの脳卒中様症状の発症時期を観察して、線量の増加に伴い発症時期が昂進するかを調査する。更に、寿命を調べるとともに病理検索を行いその死因の確定も行う。②では、脳卒中様症状を呈する直前の照射後 8 週目(過去の実験より決定)に全てのラットの解剖を行い、脳、腎臓、心臓、血管などの組織での病理形態学的、生理学的変化が放射線により加速(減速)されるか否かを検証する。血液を採取してバイオマーカーを調べる。①に関しては一部(各線量約 20 匹)の実験は終了し、照射群の発症時期は非照射群に比べ有意に昂進していることが明らかになった。現在、より正確な結果を得るためにラットの数を増やした実験を継続中である。②に関しては、既に生物試料(血液成分および解剖した臓器)の取得は終了して、病理組織検査における組織化学的、組織形態学的分析を実施中である。●26年度後半は、①の追加分の結果も加えて結果の解析を行う。②の病理検索の結果をもとに、放射線と相関する心血管病変の発症メカニズムの解明を行う。同時に取得済みの血液を用いて、バイオマーカーの測定を行う。尚、原爆被爆者の血液バイオマーカーの検査は、放射線被曝と動脈構造の変化を含む心血管病変の進展との相関の解明に有用であった。放射線量と脳卒中発症時期の変化、バイオマーカーの値、組織病理学的形態変化などの指標との関連を統計的に解析する。更に、SHR をモデル動物とした研究を新たに立ち上げる。この SHR を用いた実験により、放射線が血圧値におよぼす影響を調べるとともに、SHRSP と同様な指標を調べることにより、その機序を明らかにする。SHRSP および SHR を用いて、出来るだけ低い線量の放射線および低線量率放射線の影響を調べるための予備実験を始める。●27年度では、26年度の結果を基に、低線量および低線量率の実験を行い、福島におけるような低線量・低線量率の放射線と心血管疾患との相関を知るための実験系および適切な測定項目などを確立する。本研究は、低線量(0.1Gy 未満)領域の放射線の心血管病変への影響を考慮しながら実施される。

この研究に関する現在までの研究状況、業績

引用文献

Takahashi I, Ohishi W, Mettler Jr FA, Ozasa K, Jacob P, Ban N, Lipshultz SE, Stewart FA, Nabika T, Niwa Y, Takahashi N, Akahoshi M, Kodama K, Shore RE, and The International Radiation and Cardiovascular Disease Workshop Participants. A Report

from the 2013 International Workshop: Radiation and Cardiovascular Disease,
Hiroshima, Japan. *J Radiol Prot*, 2013; 33(4):869-80.

高橋 規郎、丹羽 保晴. 放射線が循環器疾患の発症リスクを上げているか-モデル動物と
しての SHRSP の適切性-. SHR 研究会, News Letters, 2014, in press.

結果 1. 病理検索の概要

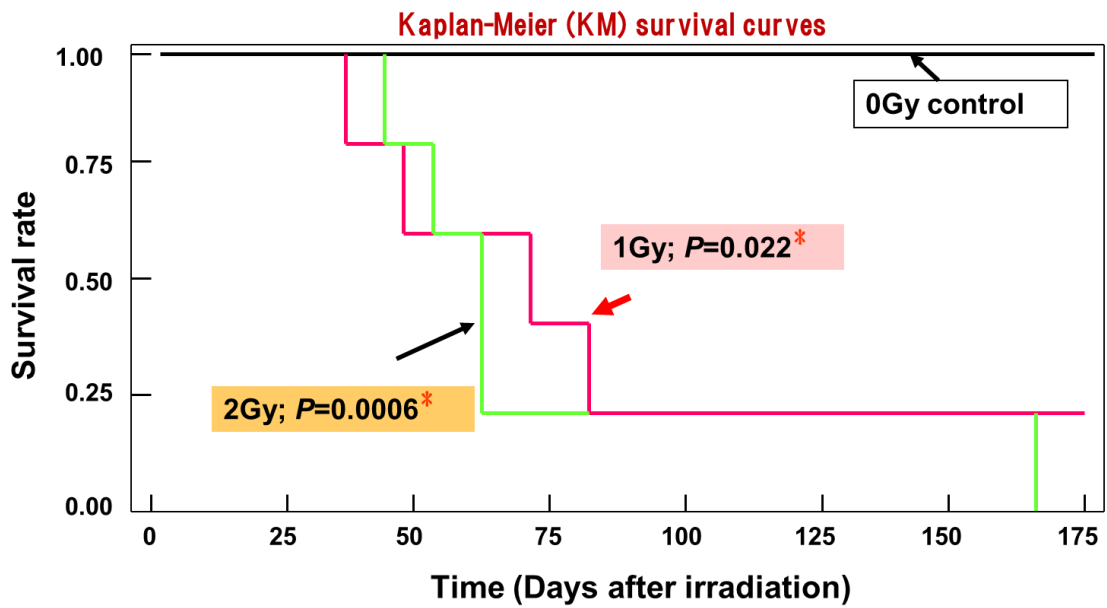
			Dose (Gy)		
			1	2	4
Aorta	Atherosclerosis		ND	ND	↑*
Heart	Cardiac muscle	Inflammation (myocarditis)	↑	↑↑	↑↑
		Myocardial fibrosis	↑	↑↑↑	↑↑↑
	Arteries (coronary)	Fibrinoid (degeneration/necrosis)	↑↑	↑↑↑	↑↑↑
Kidney	Arteries and arterioles	Periarteritis	ND	↑↑	↑↑
Brain		Hemorrhage	↑↑	↑↑	↑↑
Spleen	White pulp arteries	Medial hyperplasia	ND	↑↑↑	↑↑↑
Intestine	Small arteries	Fibrinoid necrosis and/or periarteritis	ND	ND	↑↑↑

ND: Not different from 0 Gy control

Severity of lesion: ↑ mild, ↑↑ moderate, ↑↑↑ severe

*Severe atherosclerosis was observed in 1 out of 6 SHRSP irradiated with 4 Gy

結果 2. 寿命調査結果



Can lower-dose radiation cause the circulatory disease?

-Assessment using animal models-

Yasuharu Niwa^a, Hideko Murakami^a, Waka Ohishi^b, Munechika Misumi^c and Norio Takahashi^d

^a*Department of Radiobiology/Molecular Epidemiology*, ^b*Clinical Studies*, ^c*Statistics and* ^d*Consultant*,
Radiation Effects Research Foundation (RERF), Hiroshima

Keywords: Model animal, Hypertension, Stroke, Circulatory disease, Radiation effects

Previous findings from the LSS and AHS indicated that radiation may be associated with increased risk of hypertension, possibly leading to cardiovascular diseases (CVD), such as hypertensive heart disease and stroke. On the other hand, inconsistencies have been observed among various studies of low-dose occupational and environmental exposures. Given the uncertainties, a study using irradiated model animals is being conducted to assess whether or not risk of CVD is elevated with increasing radiation dose.

Stroke prone spontaneous hypertensive rats (SHRSP) were used as the model animal in the study. Male rats were irradiated by gamma-rays at levels of 0.25, 0.5, 0.75, and 1Gy, with sham unirradiated rats used as a control group. The study used two protocols: 1) rats were kept until natural death to obtain their life span after observing stroke onset time; and 2) in order to obtain fresh samples for conducting pathological analyses, rats were euthanized at 8 weeks after irradiation.

The results can be summarized as follows: 1) The onset time of stroke-like symptom was statistically significant accelerated among irradiated rats compared with unirradiated rats until now, and 2) pathological observation is now going on. In addition, we plan to measure 36 candidate biomarkers for radiation effects that parallel those investigated in our AHS radiation studies.

In addition to the studies using SHRSP, we plan to start the experiments using SHR (spontaneous hypertensive rat) to assess the evidence for radiation-associated risk for hypertension among atomic-bomb survivors. From our experiences, the study-system of SHRSP rats might not be appropriate to assess relation between the blood pressure alterations and radiation exposure. Thus, we will use SHR rats for the purpose where

measurement of blood biomarkers and pathological examination will be conducted as well as measurement of blood pressure.

From these animal model studies, we expect to obtain somewhat clear evidence indicating whether or not radiation truly causes CVDs. The approach may also provide a novel way to seek possible mechanisms of CVDs-related by lower-dose radiation.

Finally, the evidences obtained through our studies might be able to provide some information for the relation between CVDs and low dose exposures of ionizing radiation from Fukushima Power Plant Accident.

As additional information, we also gave an invited presentation of the study at the 2013 MELODI (Multidisciplinary European Low Dose Initiative) Workshop in Brussels, Belgium that generated considerable interest.

屋外活動を制限された子供の放射線感受性変化に関する動物モデル研究

根井充(放射線医学総合研究所放射線防護研究センター・プログラムリーダー)

研究要旨

福島県の長期汚染地域において、子供は戸外での活動が制限されていることなど様々な要因により、強い精神的ストレスを受けている。最近、マウスを使った研究において、身体的な拘束により心理的ストレスを与えることにより、4Gy 照射後の放射線発がんの感受性が高まるとする知見が報告された (Feng ら、PNAS, 109, 7013-7018, 2012)。本事業は、低週齢マウスを用いてインビボとインビトロの多面的な解析を行い、より低い線量の放射線感受性に対する心理的ストレスの影響を評価するとともに、心理的ストレスと DNA 修復系との関連性を明らかにすることを目的としている。そのため、5 週齢マウスを用いて 6 時間/日の拘束を 28 日間行うとともに、7 日目に 4Gy の X 線照射を行った。非照射マウスの体重はほぼ 1g/週で直線的に増加したのに対し、非照射拘束マウスの体重は拘束開始後 3 日間減少した後、約 0.5g/週で増加した。照射マウスの体重は、拘束群、非拘束群ともに 7 日目の 4Gy 照射により一過性に低下したが、その後は非照射群とほぼ同様の増加率で増加した。28 日間の拘束処理後、マウスは解剖して血液、脾臓、大腿骨骨髓、肝臓等を採取した。これまでに臓器重量、血液像、血中抗酸化活性、大腿骨骨髓細胞における小核試験等、一部の解析を行った。その結果、1) 胸腺では照射により有意な委縮 (約 50%)、脾臓では拘束により委縮の傾向 (約 15%) が観察されること、2) 白血球数、赤血球数、血色素量および血小板数において 4Gy 照射群で有意な減少が観察され、6 時間/日の拘束のみによっても減少する傾向が見られること、3) 照射群における拘束の効果は血小板で減少傾向が見られること、4) 4Gy 照射により多染性赤血球数の有意な減少が観察される一方、照射群と非照射群どちらにおいても拘束の影響は観察されないこと、5) 4Gy 照射による小核頻度の有意な増加が観察されたものの、照射群と非照射群どちらにおいても拘束の影響は観察されないこと、6) 血中 8-oxo-deoxy-Guanine (8OHdG) 陽性細胞の比率は、有意差は無いものの拘束群と非拘束群ともに照射による増加の傾向が観察されること、7) 8OHdG 陽性細胞の比率は、有意差は無いものの照射群と非照射群ともに拘束による減少傾向が見られることを示した。次年度、染色体異常の解析や血中サイトカインの応答、肝臓におけるタンパク質発現変動やエピジェネティック制御、miRNA 制御の解析を実施する予定であるが、これまで得られたデータは、p53 ヘテロマウスを用いて行った Feng らの実験と異なり、拘束による感受性の変化は大きくないことを示唆している。p53 が欠損している条件下で照射後の長期的なゲノム不安定化が起きていた可能性が考えられる。

キーワード: 放射線感受性、心理的ストレス、小核頻度、染色体異常、抗酸化系

研究協力者: 森田明典准教授、徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部(医学系)

I 研究目的

原子力災害においては住民の心理的ストレスが大きな問題であるとの一般的な認識がある。チェルノブイリ事故後、アルコール中毒などの精神疾患や不安にさいなまれての妊娠中絶が増加したことはよく知られているが、この他、事故後 5 年ないし 10 年たって住民の無力感や日常生活管理能力の喪失感から放射線に対する関心が失われ、住民、特に子供の被ばくが増大したという事実が ICRP の報告書に記載されている。また、心理的ストレスが放射線に対する感受性を高め

ているかもしれないとする科学知見があり、さらには心理的ストレス自体に発がん作用があるかもしれないとするデータもあることから、原子力災害において心理的ストレスは複雑に作用していると推察される。その一方、今後避難指示解除準備区域における住民の帰還に際し、高リスク群である子供は屋外での活動が制限される等、強い心理的ストレスを受けることが予想されているが、心理的ストレスが子供の放射線感受性に与える影響はあまり調べられていない。そこで、本研究は目的として、心理的ストレスが子供の放射線感受性に与える影響を、動物モデルを用いて細胞遺伝学のおよび分子生物学的に明らかにすることを目指す。長期汚染地域の子供のリスク低減に資するとともに、科学的知見の不足が原因となって住民に広がる放射線長期被ばくに対する不安を解消することに本研究の意義はあると考える。

東日本大震災と原発事故によって、福島の子供たちが早くから強い心理的ストレスを受けていたことを示すデータとして、文部科学省が平成 24 年度に実施した非常災害時の子供の心のケアに関する調査を引用する。この調査は災害救助法が適用された地域を対象として行われたものであるが、心的外傷後ストレス障害 PTSD が疑われる症状を示すと診断された子供が全体で 14.1% いることを示している。地域別に見ると福島県が最も多く、原発事故の影響が示唆される。年齢が低くなるほど増加していることがわかり、また障害のある子どもほど PTSD を発症しやすいという精神医学の知見と合致している。PTSD は長期持続する慢性疾患であり、専門家による治療を受けない限り、自然に完治することは少ないとされている。

心理的ストレスに対する生体反応において、まずは大脳皮質での神経伝達物質の放出に始まり、視床下部を通して二つの経路で生体反応を引き起こすことが知られている

(図 1)。一つは急性の反応であり、自律神経系を介して副腎髄質からアドレナリンやノルアドレナリンを分泌する経路、もう一つは慢性の反応であり、下垂体を介して副腎皮質からコルチゾールを分泌する経路である。アドレナリンやノルアドレナリンは闘争ホルモンと呼ばれ、一過性の血圧上昇や血糖上昇、発汗、覚せい等を引き起こす。一方コルチゾール（げっ歯類ではコルチコステロンに置き換えられる）は、ストレスホルモンと呼ばれ、糖・蛋白質代謝に関連し、抗炎症、免疫抑制作用を有すること、そして多量に分泌された場合、脳の海馬を萎縮させることが知られている。慢性的な心理的ストレスにさいなまれている福島の子供たちにおいては、コルチゾールの経路がより強く働いていると考えられる。コルチゾールが生物本来の炎症機能や免疫機能を長期的に抑制することから、健康障害も示唆される。

慢性的な心理ストレスが発がんリスクを高めるという報告は数多くある。Penninx ら¹⁾は高齢者 4825 人を対象として「心のつらさ」を CES-D スケールと呼ばれる基準で定量化して調査を行い、ハザード比が 1.88、95%信頼区間 1.13-3.14 で発がんとは有意な相関があるという結果を得ている。Lillberg ら²⁾は、高齢の女性 10,808 人を対象として「つらい出来事」1 回あたりのハザード比として 1.07 を得ている。特に離婚/別離、夫の死、友人の死といったできごとが発がんとは高い相関があることを示している。また Chida ら³⁾は、ストレス関連の心理要因と健常者の発がんリスクに関する研究のメタアナリシスを行い、P 値 0.005 で両者に有意な相関があることを示してい

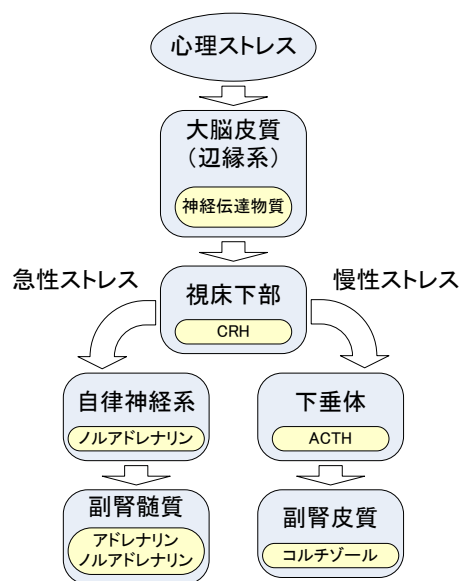


図1. 心理的ストレスに対する生体反応

る。また、がん診断後の短い予後や高いがん死亡率についても 0.001 以下の P 値で有意な相関があると結論している。このように、心理的ストレスは原子力災害において放射線影響評価の交絡因子として働くことが明らかにされている。

さらに、心理的ストレスは放射線による発がん作用を変化させていることが示されている。Haran-Ghera ら⁴⁾は、SJL/J マウスに 3Gy を照射して急性骨髄性白血病の発症を調べ、照射のみであれば 25%であった白血病発症頻度が、照射後コルチゾールの類似物質であるデキサメタゾン投与すると 49%に上がることを示している。そしてデキサメタゾンを 10 週間継続的に投与するとさらに潜伏期間が短くなることも示している。一方 Feng ら⁵⁾は、p53 ヘテロの C57BL マウスを 4 週間狭い容器に拘束して心理的ストレスを与えることにより、4Gy の放射線で発症する胸腺リンパ腫や脾リンパ腫で寿命がどう変化するかを調べた結果、メディアン生存時間が放射線のみ 340 日から 267 日に短縮することを示した。以上のように、特に造血系の組織で心理的ストレスが放射線発がんを促進していると考えられる。

一方、放射線がコルチゾールのホルモン活性を亢進させるというデータも報告されている。高線量・高線量率照射でラット血清中のホルモン上昇が報告されている他⁶⁾、1日 400mGy、トータル線量 8Gy でマウス血清中のホルモン上昇が示唆されている。また 1日 20mGy の低線量率照射で、マウス肝臓の発現変動遺伝子の上位にホルモン受容体認識配列が有意に多く出現すること、すなわちホルモン受容体の転写因子としての活性が照射によって変化していることが示唆されている⁷⁾。同じく低線量率照射でハタネズミの血中ホルモン上昇が報告されている⁸⁾。一方、1-3 ヶ月に渡ってトータル約 120mSv 被ばくしたチェルノブイリ作業員の血中ホルモンが上昇していたことが報告されている⁹⁾。

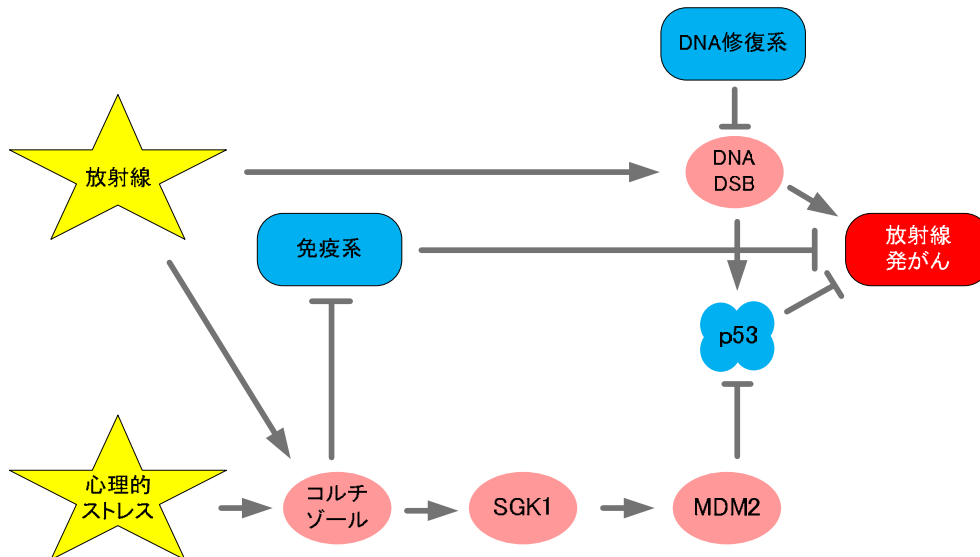


図2. 放射線と心理的ストレスの複合作用において予想される生体反応

これまでの知見に基づき、心理的ストレスによる放射線発がん修飾機構として図 2 のようなモデルが描けると考えられる。ここでは放射線の発がん作用を極めて単純化して DNA 二重鎖切断のみを介するとしており、DNA 二重鎖切断に応答して p53 を中心とする防御系が働き、両者のバランスで放射線感受性が決まるとしている。ここに心理的ストレスが負荷されると、分泌されたコルチゾールが標的細胞の受容体を介して細胞内情報伝達系を動かし、p53 の機能を抑制することにより、本来働いていたはずのがん抑制機能が低下するという構図である。その上に、放射

線によるコルチゾールの誘導やコルチゾールによる免疫抑制作用が加わり、放射線と心理的ストレスの関係を複雑なものとしている。

本研究は、心理ストレスが子供の放射線感受性に与える影響を、幼弱マウスモデルを用いて細胞遺伝学的および分子生物学的に評価するとともに、心理ストレスの放射線感受性修飾作用の指標となる生体因子を明らかにし、低線量もしくは低線量率放射線感受性修飾作用の指標としての有用性を評価することを目的とする。

II 研究方法

これまでに Feng ら⁵⁾は p53 ヘテロの C57BL マウスを用いて、身体拘束による心理的ストレスが放射線感受性を修飾する系を構築していることから、これに倣い、子供を模擬するため低週齢マウスを用いて実験系をデザインすることとした。そのために予備実験を行い、低週齢マウスに最適な拘束条件（1日当たりの拘束時間）を検討した。その際、Feng らが7週齢マウスを用いて6時間/日の拘束を行ったことから、6週齢以下のマウスを用い、低週齢マウスに過度とならない拘束条件を決定した。

5週齢および6週齢の C57BL/6J 雄マウスを1週間馴化飼育の後、毎日体重測定後5時間もしくは6時間、拘束器（図3、Kent Scientific 社、Flat Bottom Rodent Holder RSTR541）で身体拘束を行った。拘束時間内に餌と水の補給ができないため、対照群については5時間絶水・絶食処理を行った。以上を28日間に渡って繰り返し、拘束により顕著な体重変化が生じない時間を決定した。

本実験では、5週齢の C57BL/6J 雄マウスを1週間馴化飼育の後、予備実験で決定した時間（6時間）、28日間毎日繰り返し身体拘束を行った。7日目には拘束直前に4 Gy（0.5Gy/分）の照射を行った。拘束開始後28日目にイソフルラン吸入麻酔下で採血し、頸椎脱臼により安楽死処理後、解剖して脾臓、肝臓、大腿骨等の組織を採取した。予備実験と本実験ともに、6匹/群のマウスを用いた。採取した血液についてはサイトカインやホルモンの変化を調べ、脾臓については細胞分裂を誘導した後染色体異常を解析する。大腿骨からは骨髓細胞を採取して小核試験を行うとともに抗酸化活性を測定する。肝臓については、DNAのメチル化やマイクロRNAの発現を解析する。またプロテオーム解析も実施する。解析は平成27年度にかけて行う。以下ではこれまでに実施した解析について、方法を記載する。

末梢血中の白血球、赤血球、血小板の数は、大腿動脈から採取した血液をEDTA-2K(抗凝固剤)入りの採血管に取り、30分後、希釈液(セルパック)にて5倍に希釈し、多項目自動血球計数装置

(Sysmex KX-21NV, シスメックス株式会社、



図3. マウス拘束容器



図4. 多項目自動血球計数装置 (Sysmex KX-21NV)

図4)を使って調べた。それぞれの実験群には3-5匹のマウスを使った。

小核試験は、Schmid¹⁰⁾の方法を一部変更して¹¹⁾行なった。作業の手順は図5に示す通り、両側の大腿骨から得られた骨髓細胞を用いて塗抹標本を作製し、小核を持った多染性赤血球(PCE、幼若赤血球)

と同じく小核を持った正染性赤血球(NCE、成熟赤血球)の数を数えた。ここで、前者の小核を持った多染性赤血球をMNPCEs、後者の小核を持った正染性赤血球をMNNCEsで表す。小核の観察は、光学顕微鏡の1000倍を使って行なった。実験1ポイント当たり3-5匹のマウスを使い、1匹のマウスにつき少なくとも約5,000個の細胞を数えた。なお、観察者の先入観を避けるため塗抹標本の番号を乱数表でランダム化し、実験群を明らかにしないで実施した。

染色体は以下の通り解析を行った。放射線等に起因する染色体異常には、細胞分裂により消失する不安定型異常(二動原体染色体、環状染色体、染色体断片など)と、消失しないで新生細胞に受け継がれてゆく安定型異常(転座、逆位、部分欠失、重複など)がある。二動原体染色体は、その特異な構造から検出が比較的容易であり、放射線の生物影響評価に利用される代表的な染色体異常である。しかしながら、不安定型の異常であり、一つの染色体に二つの動原体あることで細胞分裂が阻害されるため、二動原体を持った細胞の頻度は時間とともに低下する。このため、被ばくから時間を経た場合や、低線量率で長期にわたって被ばくした場合には、検出できない。一方、転座(および逆位)は、安定型の異常であり、細胞分裂の支障にならないことから、被ばくから時間を経た場合でも検出可能である。また、安定型異常は、生じる頻度が低くても蓄積されたため、低線量率長期被ばくについても、検出できる可能性がある。しかしながら、転座(および逆位)等の安定型異常は、通常の染色法では検出が難しいという問題点がある。加えて、顕微鏡下で分裂中期の細胞を検索し、染色体像を観察して染色体異常を検討する作業は、熟練した専門の研究者でも、膨大な時間と労力を要する作業である。

本事業では、蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (fluorescence in situ hybridization, FISH) 法により、1番、2番、3番染色体を、それぞれ、緑色、赤色、黄色に染色する。また、最新の染色体自動解析システムを利用し、分裂期中期の細胞のみを選び出して染色体の写真データを取得する。得られた写真データでは、1番、2番、3番染色体に生じた転座を比較的容易に検出することが可能である。これを複数の人員で個別に検索し、その結果を照合し、変異の頻度を明らかにする。本年度は、染色体標本の作製、FISH法による染色体の染色、染色体自動解析システムによるデータ取得の一連の実験について、条件の最適化を行った。複数の人員でデータを個別に解析するため、染色体の観察について、評価の標準化を行った。

本課題で利用する染色体自動解析システム(図6)は以下の通りであ

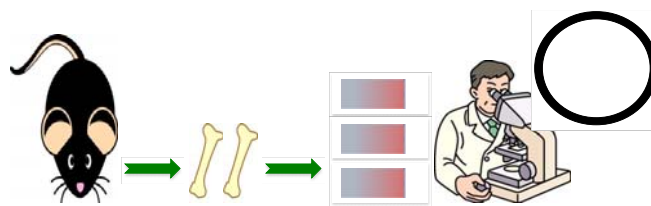


図5. 小核試験の流れ



図6. 染色体解析システム

り、放射線医学総合研究所福島復興支援部久保田善久サブリーダーらの協力の元利用する。

MetaSystems 社製	サイトジェネティック スキャンニングシステム
ソフトウェア	メタフェーズ自動検索
	MSearch ダイセントリック解析
制御装置	ホストコンピュータ PC Workstation (DELL Precision T3600)
	ステージコントローラ
	トラックボール
	22型液晶モニタ FlexScan S2243W-HXBK(NANAO)
入力装置	高性能モノクロカメラ Cool Cube 1m, 1360 x 1024, USB2.0 接続
電動ステージ	Stage 8 (8枚スライドスキャンニングステージ)
電動顕微鏡	Axio Imager Z2 (電動鏡基、蛍光: Metafer 蛍光用)
対物レンズ	PlanApochromat10x, 63xOil, 100xOil
アダプタ	Cマウントアダプタ 60N-C 1" 1.0x (Camera)
MetaSystems 社製	Metafer 解析端末システム
ソフトウェア	Metafer 解析ソフトウェア
	MSearch ダイセントリック解析
ハードウェア	ホストコンピュータ PC Workstation (DELL Precision T3600)
	22型液晶モニタ FlexScan S2243W-HXBK (NANAO)

血中抗酸化系の測定においては、大腿動脈から採取した血液を溶血後、最終濃度2%パラフォルムアルデヒドにより固定したマウス骨髄を用い、フローサイトメーターにより解析した。8-oxo-deoxy-Guanine (8OHdG)の抗体を用いて、陽性細胞の比率を抗酸化能の指標とした。

肝臓における miRNA 発現変動の解析は、タカラバイオ (株) の受託サービスを利用して解析を開始した。即ち、Trizol を用いて肝臓断片から抽出したトータル RNA をアレイ (EXIQON 社製 miRCURY LNA microRNA Array 7th generation) にかけて得られた microRNA の発現プロファイルのデータが EXCEL 形式ファイルとして得られており、現在を実験群間の比較解析を行っている。

Feng らは、ヒトの培養細胞株 (HCT116) の実験系で、コルチゾールに暴露することで、p53 の機能を抑制するシグナル伝達系が活性化されることを見いだした。p53 はアポトシス (プログラム細胞死) を誘導する細胞内シグナル伝達系に関与することから、身体拘束によって誘導されるストレスホル

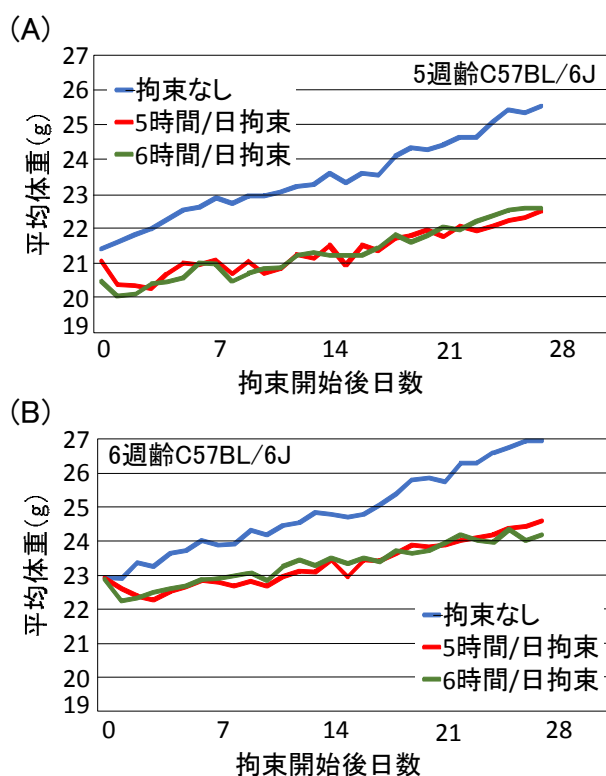


図7. 拘束マウスの体重変化

モンが、放射線により損傷をうけた細胞のプログラム細胞死を抑制するために、発がんリスクが高まると結論している。我々はこれまで、HCT116細胞株から遺伝子ターゲティングにより樹立した複数の非相同末端結合

(NHEJ) 関連遺伝子欠損変異細胞株を用いて、放射線感受性の修飾要因について検討してきた。本事業では、コルチゾール（ストレスホルモン）で活性化される細胞内シグナル伝達系と、放射線に対する細胞応答の相互作用について明らかにする。Feng らの実験では、p53 の活性化へとつながるシグナル伝達因子について、生化学的な解析を行っている。しかしながら、細胞生物学的な解析は行われていない。我々はまず、コルチゾール曝露およびエクソ線照射に対する細胞応答について、細胞の生存率（コロニー形成法）を指標に検討した。

（倫理面への配慮）

拘束に用いる拘束容器は Feng ら⁵⁾が用いたのと同規格の物を用い、拘束中は容器ごと飼育ケージに横たえ、床敷、照明などの環境は通常飼育と同じにする等、過度の苦痛を与えないよう配慮した。本研究を実施するに当たり、放射線医学総合研究所「動物実験等実施に関する規程」に基づき、動物実験委員会での審査を受け、承認を得た。

III 研究結果

拘束時間を決定するために行った予備実験の結果を図7に示す。図7(A)は5週齢マウス、(B)は6週齢マウスを用いた結果である。5時間/日および6時間/日の身体拘束を行ったマウスの平均体重の経時変化をそれぞれ赤と緑の線で、また拘束せず5時間/日の絶水・絶食処理した対照群マウスの平均体重の経時変化を青で示す。5週齢および6週齢のどちらにおいても対照群マウスの体重はほぼ1g/週で直線的に増加したのに対し、拘束マウスの体重は拘束開始後3日間減少した後、約0.5g/週で増加した。体重変化は拘束時間にほぼよらなかった。5週齢マウスでも28日間の拘束によって顕著な体重変化がなかった

(3g程度) ことから、本実験ではこの週齢を用いることとした。また拘束時間の影響も大きくなかったことから、心理的ストレスの影響を明瞭に観察するため6時間/日の条件を用いることとした。

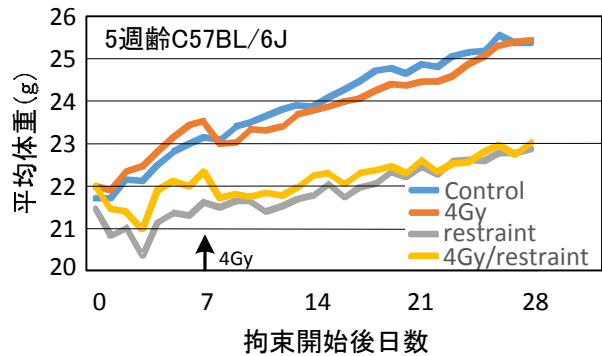


図8. 拘束マウスの体重変化。7日目の拘束直前に4Gyの照射を行った。

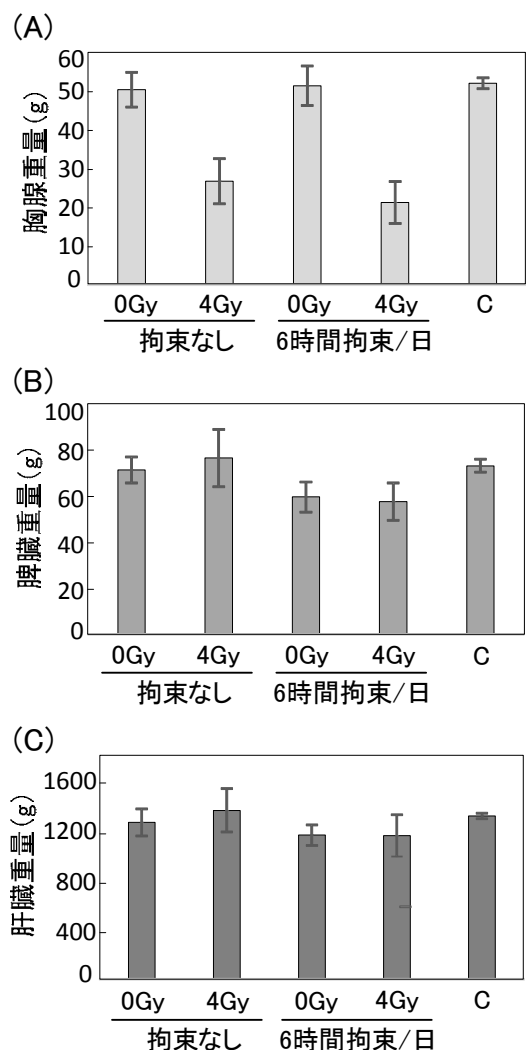


図9. 拘束マウス臓器重量の変化

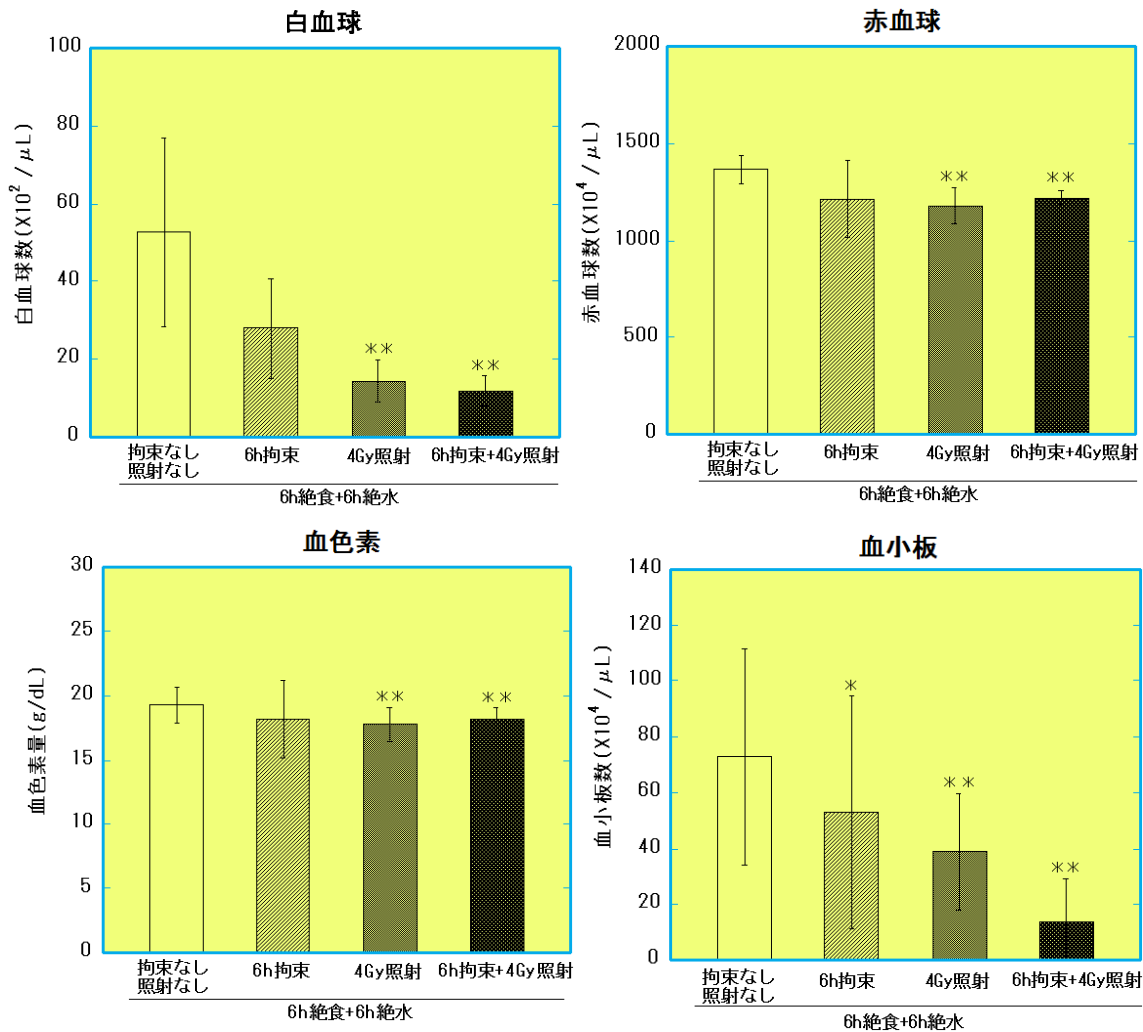


図10. 血液像

図8に本実験で行った拘束期間中の平均体重の経年変化を示す。非照射群（対照群：青、拘束群：グレイ）の体重は予備実験とほぼ同様に推移したが、照射群（対照群：オレンジ、拘束群：黄）においては7日目の4Gy照射により一過性に低下したが、その後は非照射群とほぼ同様の増加率で増加したことがわかる。拘束終了後、翌日に行った解剖で採取した臓器の重量を図9に示す。胸腺では照射により有意な委縮（約50%）が観察され、脾臓では拘束により委縮の傾向（約15%）が観察された。しかし肝臓には照射の影響も拘束の影響も観察されなかった。

図10に血液像の解析結果を示す。白血球数、赤血球数、血色素量および血小板数すべてにおいて4Gy照射群で有意な減少が観察された。6時間/日の拘束のみによっても減少する傾向が見られたが、有意差は無かった。照射群における拘束の効果は血小板でのみ減少傾向が見られた。

小核試験の解析例を図11に示す。ピンク色ないし紫色の多染性赤血球（PCE）数、赤色の正染性赤血球（NCE）、小核を保有するPCE

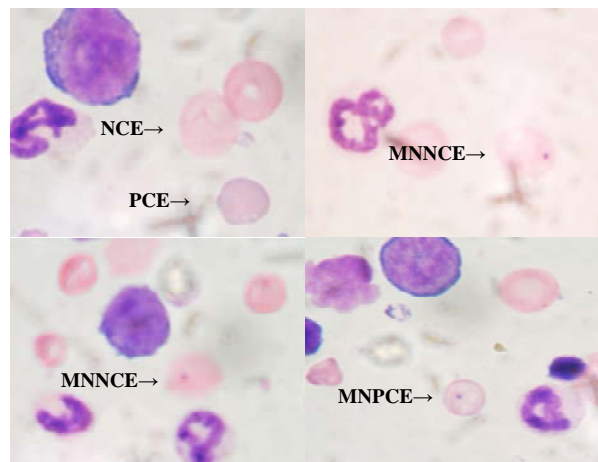


図11. 観察された小核の例。

(MNPCE)、および小核を保有するNCE (MNNCE) を計数した。

得られた数値データを表1に、グラフを図12に示す。PCEとNCEの和に対するPCEの比率(図12(A))は骨髄細胞の増殖状態を表す指標であり、その低減は細胞毒性を反映すると考えられている。実験結果は予想した通り、4Gy照射により有意な減少を示した。一方、照射群と非照射群どちらにおいても拘束の影響は観察されなかった。小核頻度の解析においては、MNPCEとMNNCEともに4Gy照射による有意な増加が観察されたものの、照射群と非照射群どちらにおいても拘束の影響は観察されなかった。すなわち、拘束による心理的ストレスは造血系組織のゲノム損傷を指標とした放射線感受性に有意な影響をもたらさなかったと考えられる。

表1. 小核試験

マウス個体番号	PCE	NCE	PCE/(PCE+NCE) (%)	MNPCE	MNNCE	MNPCE(‰)	MNNCE(‰)
コントロール(絶水・絶食なし)群							
#455	13433	8919	60.1	11	5	0.82	0.56
#456	11798	8124	59.2	12	8	1.02	0.98
#361	6973	4953	58.5	4	2	0.57	0.40
#365	7875	5298	59.8	4	3	0.51	0.57
#373	5190	4842	51.7	5	4	0.96	0.83
平均			57.9			0.78	0.67
標準偏差			3.5			0.23	0.23
コントロール(絶水・絶食あり)群							
#409	9434	5240	64.3	6	3	0.64	0.57
#421	14340	9421	60.4	12	7	0.84	0.74
#406	9692	6085	61.4	6	3	0.62	0.49
#420	9941	5489	64.4	7	3	0.70	0.55
#414	7704	5076	60.3	5	3	0.65	0.59
#419	11084	7464	59.8	8	5	0.72	0.67
平均			61.8			0.69	0.60
標準偏差			2.1			0.08	0.09
6時間/日拘束群							
#403	7536	5203	59.2	6	3	0.80	0.58
#413	8496	5127	62.4	7	4	0.82	0.78
#415	9259	6166	60.0	8	4	0.86	0.65
#408	9747	6953	58.4	8	6	0.82	0.86
#412	10754	7058	60.4	9	5	0.84	0.71
#401	11000	7373	59.9	7	5	0.64	0.68
平均			60.0			0.80	0.71
標準偏差			1.4			0.08	0.10
4Gy照射群							
#402	9152	6735	57.6	36	25	3.93	3.71
#410	8105	6361	56.0	30	22	3.70	3.46
#416	8476	6422	56.9	28	22	3.30	3.43
#424	6689	5489	54.9	22	18	3.29	3.28
#417	8131	6940	54.0	37	18	4.55	2.59
#405	7100	5498	56.4	22	17	3.10	3.09
平均			56.0			3.65	3.26
標準偏差			1.3			0.54	0.39
6時間/日拘束+4Gy照射群							
#407	15005	11964	55.6	38	23	2.53	1.92
#404	8122	6165	56.8	26	15	3.20	2.43
#418	12483	8830	58.6	58	30	4.65	3.40
#423	6924	5347	56.4	29	15	4.19	2.81
#411	9361	6559	58.8	39	25	4.17	3.81
#422	7089	6545	52.0	27	18	3.81	2.75
平均			56.4			3.76	2.85
標準偏差			2.5			0.77	0.67

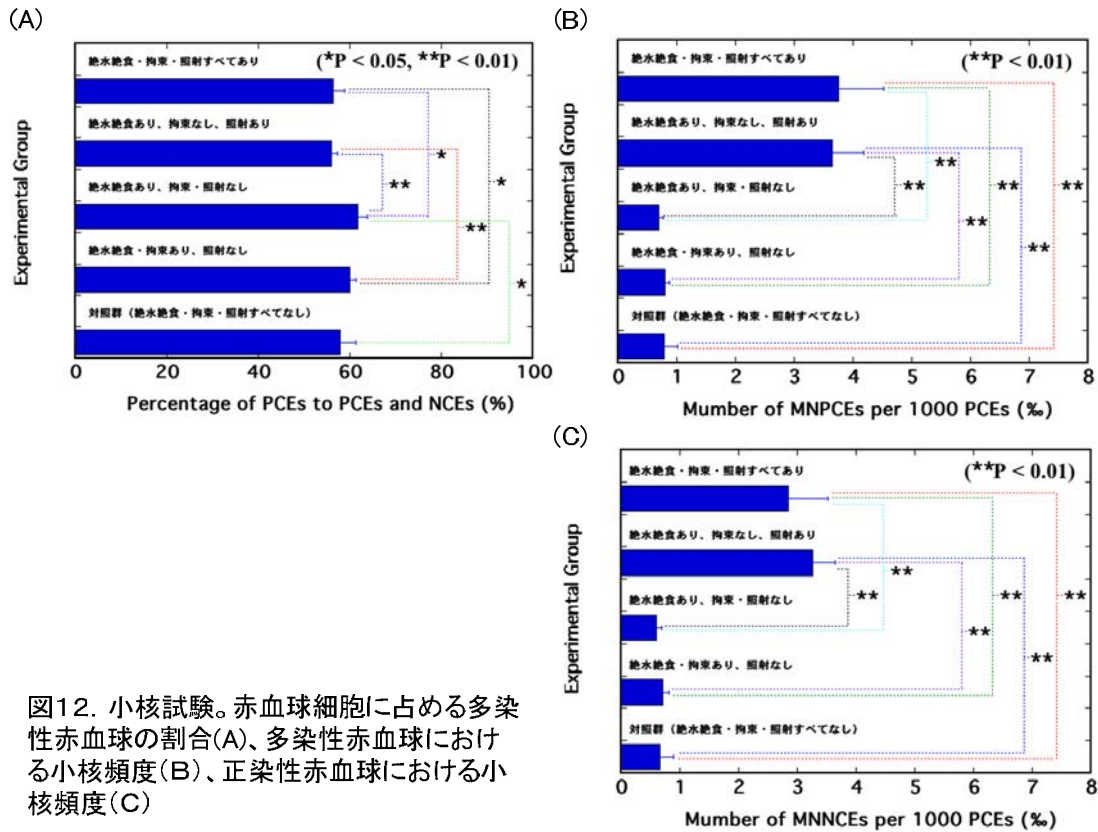


図12. 小核試験。赤血球細胞に占める多染性赤血球の割合(A)、多染性赤血球における小核頻度(B)、正染性赤血球における小核頻度(C)

脾臓細胞の染色体の解析においては、蛍光 in situ ハイブリダイゼーション法により 1 番染色体、2 番染色体、および 3 番染色体を染色し、染色体自動解析システムにより分裂期中期の細胞のみを選び出して染色体イメージデータを取得する作業を開始した。図 13 に例を示す。次年度は 1~3 番染色体が関与する転座を中心に染色体頻度を解析していく。

血中 8OHdG 陽性細胞の比率は、図 14 に示す通り、拘束群と非拘束群ともに照射による増加の傾向が観察され、また照射群と非照射群ともに拘束による減少傾向が見られたが、どちらにおいても有意差は認められなかった。次年度は、骨髄以外に、胸腺及び脾臓に関しても、同様の解析を行なう。

肝臓における miRNA 発現変動については、タカラバイオ (株) の受託解析が終了し、現在実験群間の比較解析を行っている。

培養細胞の解析において、コルチゾール曝露およびエックス線照射に対する細胞応答について、細胞の生存率 (コロニー形成法) を指標に検討した結果、図 15 に示す通り、コルチゾールの細胞生存率への影響は顕著でなかった。さらに、Feng らの実験系に倣い、最終濃度 200 nM のコルチゾールの存在下で 16 時間培養した HCT116 細胞株に、X 線 (0, 1, 2, 4 Gy) を照射し、さらに 6 時間培養してから、生存率を解析したところ、予備的な結果であるが、200 nM コルチゾールの存在下では、2-4 Gy の放射線に対する感受性が増加する傾向が観察された。次年度は生存率

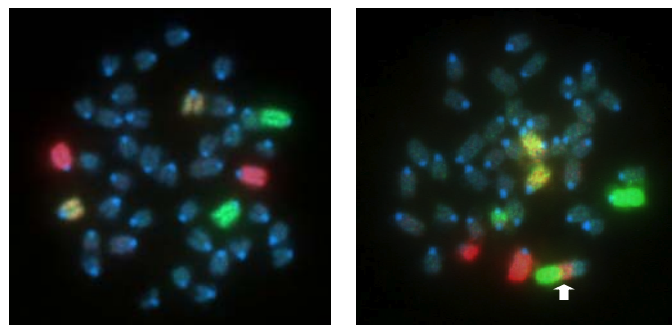


図13. 染色体観察像の例。左側が正常な細胞の例で、右側が染色体異常のある細胞の例。1番(緑)、2番(赤)1~3番以外(青)の3種の染色体の間で転座が起きた染色体断片が見られる(矢印)。

に加え、遺伝子変異誘導（HPRT 解析）に対するコルチゾールの作用についても、野性型（HCT116）および非同相末端結合関連遺伝子欠損変異細胞株で、検討する予定である。

IV 考察

心理ストレスが子供の放射線感受性に与える影響を明らかにすることを目的として、6時間/日の拘束を28日間行うとともに、7日目に4GyのX線照射を行ったマウスにおいて、照射による胸腺の有意な委縮（約50%）と血球細胞数の有意な減少、および小核頻度の有意な増加を観察したが、照射群と非照射群のどちらにおいても6時間/日の拘束の影響は観察されなかった。Fengらの知見から、拘束マウスにおける放射線発がんの早期発症がゲノム修復能の低下が原因であれば、胸腺委縮の遅い回復や小核頻度の増大が観察されると予想されたが、結果はそうはならなかった。このことから、Fengらがp53ヘテロマウスを用いて導いた結論ほど、拘束による感受性の増大は大きくないのではないと思われる。Fengらの実験においては、照射後の長期的なゲノム不安定化が起きているのかもしれない。今後、染色体異常の解析や血中サイトカインの応答、肝臓におけるエピジェネティック制御やmiRNA制御の解析を進めるとともに、拘束終了後のゲノム変異を長期に渡って調べる必要があると思われる。

V 結論

本事業は、心理ストレスが子供の放射線感受性に与える影響を明らかにすることを目的として、5週齢マウスを用いて6時間/日の拘束を28日間行うとともに、7日目に4GyのX線照射を行った。マウスは解剖し、これまでに大腿骨髄細胞における小核試験等、一部の解析を行った。その結果、1) 胸腺では照射により有意な委縮（約50%）が観察され、脾臓では拘束により委縮の傾向（約15%）が観察されること、2) 白血球数、赤血球数、血色素量および血小板数すべてにおいて4Gy照射群で有意な減少が観察され、6時間/日の拘束のみによっても減少する傾向が見られること、3) 照射群における拘束の効果は血小板でのみ減少傾向が見られること、4) 4Gy照射によりPCE数の有意な減少が観察される一方、照射群と非照射群どちらにおいても拘束の影響は観察されないこと、5) 小核頻度はMNPCEとMNNCEともに4Gy照射による有意な増加が観察されたものの、照射群と非照射群どちらにおいても拘束の影響は観察されないこと、6) 血中8OHdG陽性細胞の比率は、有意差は無いものの拘束群と非拘束群ともに照射による増加の傾向が観察されること、7) 8OHdG陽性細胞の比率は、有意差は無いものの照射群と非照射群ともに拘束による減少傾向が見られることを示した。次年度実施する染色体異常やプロテオーム、およびmiRNAの解析により、より詳細な知見が得られると思われるが、少なくとも傾向として、

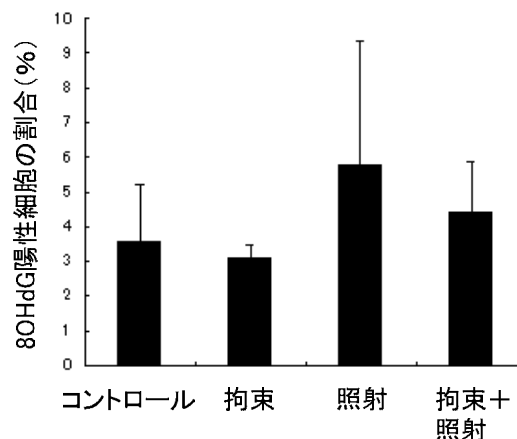


図14. 血中8-hydroxy-2'-deoxyguanosineの測定

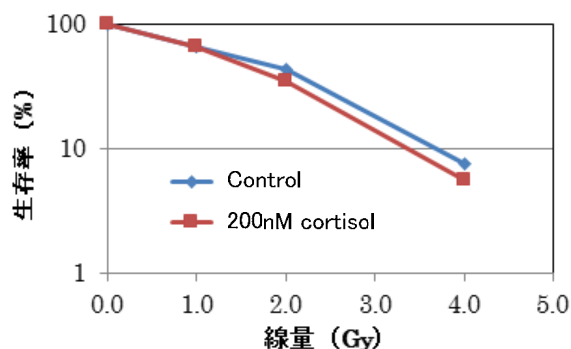


図15. コルチゾール存在下における放射線感受性。

p53ヘテロマウスを用いて行ったFengらの実験と異なり、拘束による感受性の変化はあまり大きくないことが示唆されたと考えられる。p53が欠損している条件下で照射後の長期的なゲノム不安定化が起きている可能性が考えられる。

VI 次年度以降の計画

まずは、今年度実施した拘束マウスの照射実験で得られた臓器サンプルについて解析を行う。すなわち、脾細胞における染色体異常、血中サイトカイン、ホルモン、および肝臓におけるタンパク質発現、エピジェネティック変化（DNAメチル化やmiRNA発現）を測定して拘束による放射線作用の修飾を評価する。また、DNA修復遺伝子欠損細胞を用いてインビトロでコルチゾールの放射線感受性修飾を解析し、DNA修復系の関与を調べる。

そして、心理的ストレスの低線量もしくは低線量率放射線影響への修飾作用を解析するために、拘束マウスを低線量もしくは低線量率放射線で照射する実験を実施する。更に、飼育区間制限用の小型ケージで子供の屋外活動制限を模擬した実験も行う。

引用文献

- 1) Penninx BW Guralnik JM Pahor M et al. Chronically depressed mood and cancer risk in older persons. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1888-1893.
- 2) Lillberg K Verkasalo PK Kaprio J et al. Stressful life events and risk of breast cancer in 10,808 women: a cohort study. *Am J Epidemiol* 2003; 157: 415-423.
- 3) Chida Y Hamer M Wardle J et al. Do stress-related psychosocial factors contribute to cancer incidence and survival? *Nat Clin Pract Oncol* 2008; 5: 466-475.
- 4) Haran-Ghera N Peled A Krautghamer R et al. Initiation and promotion in radiation-induced myeloid leukemia. *Leukemia* 1992; 6: 689-695.
- 5) Feng Z Liu L Zhang C et al. Chronic restraint stress attenuates p53 function and promotes tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109: 7013-7018.
- 6) Lebaron-Jacobs L Wysocki J Griffiths NM. Differential qualitative and temporal changes in the response of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis in rats after localized or total-body irradiation. *Radiat Res* 2004; 161: 712-722.
- 7) Vares G Uehara Y Ono T et al. Transcription factor-recognition sequences potentially involved in modulation of gene expression after exposure to low-dose-rate γ -rays in the mouse liver. *J Radiat Res* 2011; 52: 249-256.
- 8) Boonstra R Manzon RG Mihok S et al. Hormetic effects of gamma radiation on the stress axis of natural populations of meadow voles (*Microtus pennsylvanicus*). *Environ Toxicol Chem* 2005; 24: 334-343.
- 9) Souchkevitch G Lyasko L. Investigation of the impact of radiation dose on hormones, biologically active metabolites and immunoglobulins in Chernobyl accident recovery workers. *Stem Cells* 1997; 15 Suppl 2: 151-154.
- 10) Schmid M. The micronucleus test. *Mutat Res* 1975; 31: 9-153.
- 11) Chaubey RC, et al. Studies on the migration of micronucleated erythrocytes from bone marrow to the peripheral blood in irradiated Swiss mice. *Int J Radiat Biol* 1993; 63: 239-245.

Animal model study on radiation sensitivity of children prohibited from doing outdoor activities

Mitsuru Nenoi, Bing Wang, Tetsuo Nakajima, Takanori Katsube, Yasuharu Ninomiya, Guillaume Vares, Kaoru Tanaka

National Institute of Radiological Sciences

Keywords: Radiation sensitivity; Psychological stress; Chromosome aberration; Micronucleus; Anti-oxidative activity

Abstract

Children living in radioactively contaminated areas in Fukushima are often prohibited from doing outdoor activities, which is thought to cause strong psychological stresses. It was recently reported by use of a mouse model that susceptibility of mice to radiation carcinogenesis was increased after psychological stresses induced by chronic restraint (Feng, *et al.*, PNAS, 109, 7013-7018, 2012). We planned to investigate the effects of psychological stresses on radiation sensitivity of young mice (infant to young adult) by conducting multidisciplinary analyses both *in vivo* and *in vitro*. For this purpose, 5-week-old male mice were chronically restrained for 6 hours per day for 28 days, during which the mice were once irradiated with 4 Gy of X-rays on the 7th day. Mice were sacrificed, and bloods, spleens, os femoris, livers were sampled to analyze the levels of cytokines and hormones, anti-oxidative activity, chromosome aberrations, micronuclei, protein expression profiles, epigenetic variations (DNA methylation and miRNA expression), etc. Most analyses are scheduled to be completed in the next fiscal year. The results obtained so far show a significant reduction of thymus weights and blood-cell numbers in 4 Gy-irradiated mice. A significant increase in micronuclei was also observed in irradiated mice. However, no parameters were significantly modulated by chronic restraint either in irradiated or unirradiated group. This result disagreed with Feng *et al* who showed an elevated susceptibility of p53-heterozygous mice to radiation carcinogenesis in the restraint condition. It may be suggested that psychological stresses would have little influence on sensitivity of p53-wt mice to genome-damaging effects of radiation. We also planned to investigate whether psychological stresses affect specific DNA repair mechanisms *in vitro* by use of various DNA repair-deficient cells cultured in the presence of cortisol. The effects of cortisol, which is known as stress hormone regulating physiological responses to psychological stresses, on irradiated cells are now under investigation.

低線量率放射線長期被ばくによる生体影響の低減化に関する研究

山内 一己（公益財団法人 環境科学技術研究所）

研究要旨

高線量率放射線照射によるマウスの生体影響が、総摂取カロリーの制限により低減化できることが報告されている。しかしながら低線量率放射線長期照射による生体影響の低減化の効果が見られるかは明らかでない。

そこで本研究は、マウスの低線量率 γ 線長期間連続照射による生物影響である寿命短縮と腫瘍の発生を指標として、総摂取カロリーを減少させたカロリー制限で飼育を行うことで、低線量率 γ 線長期連続照射の生体影響がカロリー制限により低減化できるかを明らかとする。

また、肝臓と脾臓においてそれぞれ遺伝子発現と染色体異常頻度を解析するため、連続照射開始前、照射 200 日目、照射 400 日目、照射終了後 200 日目にマウスを解剖し、染色体異常と遺伝子発現解析を行うことで、低線量率 γ 線長期連続照射による染色体異常発生と遺伝子発現がカロリー制限によってどのように抑制されるかを明らかにする。

本研究は福島での原発事故による長期被ばくの障害を低減化するための方法を探る上で貴重な情報になる。

キーワード：低線量率放射線長期連続照射 マウス カロリー制限 発がん 環境科学技術研究所 染色体異常

研究協力者 田中 公夫・環境科学技術研究所 相談役、田中 聡・環境科学技術研究所 主任研究員、香田 淳・環境科学技術研究所 研究員

I 研究目的

高線量率高線量放射線照射によるマウスの生体影響が、照射後の総摂取カロリーの制限により低減化できることが報告されているが¹⁻³⁾、総摂取カロリーの制限により低線量率放射線長期照射による生体影響で低減化の効果が見られるかは明らかでない。

本研究は低線量率 γ 線長期連続照射による生体影響の低減化の実証を目的として、低線量率 γ 線長期連続照射中から餌のカロリーを約 30%減らして飼育を行う事で、低線量率 γ 線長期連続照射により生じる生体影響の低減化の有無を明らかにする。

本研究は福島での原発事故による長期被ばくの障害を低減化するための方法を探る上で貴重な情報になる。

II 研究方法

(1) カロリー制限による低線量率 γ 線長期連続照射による生体影響の低減化の実証実験

生後 8 週齢の雄の B6C3F1 マウスに、放射線を照射しない非照射群と、一日当たり 20 mGy（以下、20 mGy/day）を 400 日間照射する照射群の 2 つを設定する。このとき照射群と非照射群に、通常のカロリーである一週間当たり 95kcal（通常食）と、約 30%カロリーを減らした一週間当たり 65kcal（カロリー制限食）の 2 つの餌を与える群を設定する。20 mGy/day で 400 日間の照射終了後は通常の飼育室で飼育し、寿命とがんの発生を照射の有無とカロリー制限の有無で比較するこ

とにより、低線量率 γ 線長期連続照射の生体影響のカロリー制限による低減化の有無を解析する。

(2) カロリー制限による染色体異常と遺伝子発現に対する影響解析

(1)と同様に、4つのマウス実験群を設定し、照射前、照射開始200日後、照射開始400日後(照射終了時)、照射終了後200日にそれぞれマウスを解剖し、脾臓細胞の染色体異常と肝臓の遺伝子発現解析を行う。

(倫理面への配慮)

本研究の動物実験は、公益財団法人 環境科学技術研究所 動物実験委員会に申請を行い、苦痛の軽減、代替法の活用可否および動物数の減少などの倫理面および計画の妥当性等の審査を受けたのち行った(環境科学技術研究所 平成25年度 動物実験計画書 整理番号25-4号)。

III 研究成果

(1) マウス実験群の設定について

平成25年1月30日より各実験群で65匹のB6C3F1マウスの雄を、1ケージ1匹で飼育し、生後8週齢より1日当たり20 mGy(20 mGy/日)の γ 線の400日間の連続照射と1週間あたり95 kcalと65kcalの餌を与える実験を開始した(図1)。 γ 線の照射スペースの都合上、予定していたすべてのマウスの照射を一度に開始できなかつたため、平成25年8月30日より各実験群25匹のマウスを追加した。このため20 mGy/日の γ 線の400日間照射は、平成26年3月6日と平成26年10月4日に照射が終了する。このうち、平成26年3月6日で20 mGy(20 mGy/日)の γ 線の400日間の連続照射を終了した発がん実験マウスは、照射開始200日と400日の実験に用いた経時的解剖マウスを除いた一群あたり50匹で、すべての実験群で腫瘍などによる死亡は見られなかった。



図1 マウス飼育法

マウスはすべてシングルケージの単独飼育を行い、毎週月・水・金に摂餌を行っている。飼育水は週2回、ケージは週1回交換を行っている。

(2) 体重の推移

毎週1回体重測定を行い、 γ 線照射とカロリー制限の体重への影響を解析した。図2は、平成25年1月30日から平成26年3月6日の400日間の低線量率 γ 線連続照射期間の各群マウスの平均体重の推移を示した。

このうち開始1週から3週で、65 kcal群で体重の減少が見られるが、4週以降では体重の増加が見られ、この期間の65 kcal群と95 kcal群の体重差が大きい。

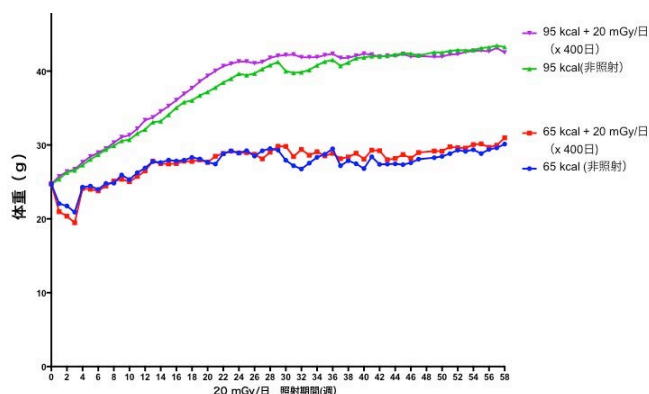


図2 20 mGy/日の γ 線の400日間照射中の95 kcal摂餌群と65 kcal摂餌群の体重の変化
95 kcal摂餌群と65 kcal摂餌群は、それぞれ95 kcalと65 kcalとし、20 mGy/日照射群は、20 mGy/日(x 400日)とした。また、照射開始を0で、照射終了は58週で示している

これは、実験作業の都合上、1 週から 3 週までは金曜日の摂餌前の空腹時に体重測定を行い、4 週以降は月曜日に摂餌を行った翌日の火曜日の満腹時に体重測定を行ったため、このような体重の変化が見られたためであると考えられる。この 400 日間の測定期間では、照射の有無にかかわらず 65kcal 群で 95kcal 群と比較して有意な体重の減少が見られた。

(3) 摂餌量と摂取カロリー

各餌は毎週月・水・金にそれぞれ分け与え、翌週月曜日に食べ残しの餌を測定することで、週あたりの摂餌量と摂取カロリーを計算した(表 1)。65 kcal 飼育群では食べ残しがみられなかったため、週あたりの摂取カロリーは 65 kcal であり、95 kcal 群では、一匹あたり平均 2.5 g の食べ残しが見られたため、平均摂取カロリーは、86~87 kcal/週であった。

表1. 週あたりの摂餌量と摂取カロリー

	平均摂餌量 (g)	平均摂取カロリー (kcal)
65 kcal	19.8	65
95 kcal	25.4	86
65 kcal + 20 mGy/day	19.9	65
95 kcal + 20 mGy/day	25.7	87

(4) 照射開始 200 日のマウス解剖結果

放射線の造血系や染色体異常に対するカロリー制限の影響を解析するため、20 mGy/日の γ 線を 200 日間照射したマウスを各群 5 匹以上解剖し、体重・臓器重量・血球成分・骨髓内の造血系細胞の比率と脾臓染色体の標本作製を行った。

体重と肝臓、脾臓重量と体重に占める脾臓と肝臓の割合を表 2 に示した。65kcal 群でのみ照射マウスで肝重量と肝臓の体重に占める割合の減少、脾臓重量と脾臓の体重に占める割合にそれぞれ有意差が見られた (t 検定で $P < 0.05$)。

表2. 200日間のカロリー制限と照射による体重と臓器重量の影響

実験群	体重(g)	肝臓 (mg)	体重に占める肝臓の割合(%)	脾臓 (mg)	体重に占める脾臓の割合(%)
65 kcal	27.1 ± 1.7	1228.6 ± 122.7	4.5 ± 0.2	47.9 ± 5.1	0.17 ± 0.01
95 kcal	38.0 ± 2.0	1841 ± 212.4	4.8 ± 0.5	79.8 ± 11.9	0.21 ± 0.03
65 kcal + 20 mGy/day	26.3 ± 1.2	1003.0 ± 30.6*	3.8 ± 0.2*	38.4 ± 3.4*	0.15 ± 0.01*
95 kcal + 20 mGy/day	40.9 ± 2.1	1840 ± 275.9	4.5 ± 0.5	69.0 ± 8.0	0.17 ± 0.01

数値は平均 ± SDを示す

$P < 0.05$ (各カロリー摂餌群の、照射群と非照射群の間で有意差が見られたもの)

IV 考察

平成 25 年度は、前年度に引き続きカロリー制限実験と低線量率 γ 線の連続照射実験を継続した。照射スペースの都合上、2 回に分けて照射を行い、本年度末までにははじめの照射群について 400 日間の低線量率 γ 線照射を終えた。環境科学技術研究所がこれまで行ったマウスの低線量率 γ 線連続照射実験と異なり、餌の組成や飼育方法を変更したことによる影響が考えられたが、照射期間中の発がんによる死亡などが見られていないことから、飼育方法の変更による実験系への大きな影響は見られていないと考えられる。つぎにカロリー制限実験群の観察期間の平均体重は 30 g 以下であり、95 kcal 群では、飼育日数による増加し、照射終了時では 40 g 以上となっている。この体重の推移は、以前行った同一系統マウスのカロリー制限実験と同様の傾向を示しているため³⁾、摂餌方法などに問題は無いと考えられた。また、65 kcal 餌のカロリー制限実験の低線量率 γ 線照射群で、脾臓の重量が顕著に減少していることは、脾臓内のリンパ球の分布に影響が見られる事が示唆された事から、脾臓や骨髄などの造血系細胞における影響について解析を行う必要があることが考えられた。

V 結論

本年度は、昨年度に引き続き低線量率 γ 線長期連続照射とカロリー制限を行うためのマウス実験を継続した。マウスの発がんや寿命を指標とした生物影響を解析するためには長期間の飼育が必要であり、またカロリー制限実験を安定して行うためには、摂餌方法や体重測定、摂餌量の測定など多岐にわたる実験を行う必要があることから、本年度は実験群の設定と飼育方法の安定を中心に研究を行った。これまでのカロリー制限実験³⁾とは異なり、1 ケージ 1 匹で飼育することや、摂餌量や体重を毎週測定することで、個体ごとの詳細なデータを得ることができた。また、これまで行ったカロリー制限実験³⁾の体重増加曲線と同様な推移を示していることから、今回の飼育実験系は問題ないと考えられた。このため、本方法で飼育することにより、カロリー制限による低線量率 γ 線長期連続照射による生体影響の低減化の実証実験が可能であると結論した。

VI 次年度以降の計画

これまでの研究より 20 mGy/day の 400 日間照射の雄マウスでは、照射終了より悪性リンパ腫を含む造血系腫瘍の発生が見られ、次に肝臓や肺での腫瘍が観察されている³⁻⁴⁾。このため、平成 26 年度においては、主に悪性リンパ腫の発生についての解析結果が得られると考えられる。また 2 回に分けた照射実験のうち、一群当たり 50 匹のマウスは、平成 26 年度末までには、20 mGy/day の 400 日間照射の平均寿命である生後 800 日までの観察結果を得ることが出来ることから、発がんによる死亡開始時期の変化について、カロリー制限による影響を明らかにできると考えられる。

脾臓細胞の染色体解析と肝臓の遺伝子発現解析においては、照射開始 200 日後と 400 日後のサンプルが得られた。20 mGy/day で 200 日もしくは 400 日照射した脾臓では染色体異常が増加していることが分かっている⁶⁻⁷⁾。染色体異常におけるカロリー制限の影響は、本年度中に照射開始前、照射開始 200 日と 400 日の解析結果を得ることが出来る。また、染色体のほか、造血幹細胞や脾臓などの組織における照射開始 200 日と 400 日の解析結果を得ることができる。

この研究に関する現在までの研究状況、業績
なし

引用文献

- 1) Yoshida K, Inoue T, Nojima K,他. Calorie restriction reduces the incidence of myeloid leukemia induced by a single whole-body radiation in C3H/He mice, *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997; 94(6): 2615-9.
- 2) Yoshida K, Inoue T, Hirabayashi Y,他. Radiation-induced myeloid leukemia in mice under calorie restriction, *Leukemia*. 1997 ; Suppl 3:410-2
- 3) Shang Y, Kakinuma S, Yamauchi K,他. Cancer Prevention by adult-onset calorie restriction after ionizing radiation in B6C3F1 male mice, *Int J Cancer*. 2014; DOI: 10.1002/ijc.28751
- 4) Tanaka S, Tanaka IB 3rd, Sasagawa S,他. No lengthening of life span in mice continuously exposed to gamma rays at very low dose rates, *Radiat Res*. 2003; 160(3): 376-9.
- 5) Tanaka IB 3rd, Tanaka S, Ichinohe K 他. Cause of death and neoplasia in mice continuously exposed to very low dose rates of gamma rays, *Radiat Res*. 2007; 167(4): 417-37.
- 6) Tanaka K, Kohda A, Satoh K. Dose-rate effects and dose and dose-rate effectiveness factor on frequencies of chromosome aberrations in splenic lymphocytes from mice continuously exposed to low-dose-rate gamma-radiation, *J Radiol Prot*. 2013; 33(1): 61-70.
- 7) Tanaka K, Kohda A, Satoh K, 他. Dose-rate effectiveness for unstable-type chromosome aberrations detected in mice after continuous irradiation with low-dose-rate gamma rays, *Radiat Res*. 2009; 171(3): 290-301.

Effect of calorie restriction on life span and tumor incidence in mice exposed to long-term, low-dose gamma irradiation

Kazumi Yamauchi, Atsushi Kohda, Satoshi Tanaka, Kimio Tanaka and Junichro Komura.

Department of radiobiology, Institute for environmental Sciences

Keywords: low-dose-rate gamma irradiation; long-term irradiation; mouse; calorie restriction; tumor; chromosome aberration

Abstract

Calorie restriction (CR), that is, the reduction of calorie intake to 50–70% of ad libitum levels over a lifetime, is known to increase life span and suppress tumors in mice. CR also suppresses high-dose irradiation-induced solid tumors and leukemia. However, it is not known whether the tumors and shortened life span induced by long-term exposure to a low dose rate of gamma radiation are reduced by CR. In this study, mice were exposed to a low dose rate (20 mGy/day) of gamma rays from 8 weeks of age for 400 consecutive days. They were fed normal-calorie or CR diets, and their life span and the incidence of tumors were analyzed. One male B6C3F1 mouse was housed per cage. The normal-calorie group was fed 95 kcal/week, and the CR group was fed 65 kcal/week. After receiving the predetermined total dose of radiation (8,000 mGy), the mice were transferred to animal rooms and housed there until they died. Two nonirradiated control groups were fed the same diets as the irradiated normal-calorie and CR groups. The number of mice per group was 60. In a separate analysis, five mice per group were sacrificed 200 days into the study and their organ and total body weights measured. During the study period, the body weight of mice fed normal-calorie diets increased for both the irradiated and the nonirradiated control groups, but the CR diet suppressed body weight in both groups. No significant difference was observed between life spans of the CR and normal-diet groups. Findings in irradiated mice sacrificed at 200 days showed significant differences in liver weight and liver-body and spleen-body weight ratios between the CR and normal-diet conditions.

テーマⅢ

放射線による健康不安対策の推進に関する研究

- Ⅲ－ 1 保健師による実際的な放射線防護文化のモデル開発・普及と検証：放射線防護専門家との協働によるアクションリサーチ
麻原 きよみ（聖路加看護大学 看護学部地域看護学分野 教授）

- Ⅲ－ 2 福島県川内村の帰村促進のための取り組み
浦田 秀子（長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科保健学専攻看護学講座
専攻主任、教授）

- Ⅲ－ 3 地域特性を生かしたリスクコミュニケーターによる放射線健康不安対策の推進
大野 和子（京都医療科学大学 医療科学部・放射線技術学科 教授）

- Ⅲ－ 4 福島県における放射線健康不安の実態把握と効果的な対策手法の開発に関する研究
川上 憲人（東京大学大学院医学系研究科 精神保健学分野教授）

- Ⅲ－ 5 自治体と研究機関で進める効果的な放射線教育活動の模索と効果の検討
中山 信太郎（徳島大学大学院ソシオ・アーツ・アンド・サイエンス研究部 教授）

- Ⅲ－ 6 放射線測定と行動調査による子どもの線量低減化と健康不安の軽減に関する研究
細野 眞（近畿大学医学部附属病院 教授）

- Ⅲ－ 7 まるごと線量評価に基づく詳細なリスク分析に伴ったリスクコミュニケーションの確立
宮崎 真（福島県立医科大学 医学部 放射線健康管理学講座 助手）

保健師による実際的な放射線防護文化のモデル開発・普及と検証： 放射線防護専門家との協働によるアクションリサーチ

主任研究者 麻原きよみ（聖路加看護大学・教授）

研究要旨

目的：原子力災害復旧期の住民の被曝に対する不安やストレスの軽減と質の高い生活のために、住民に実際的な「放射線防護文化」を形成するための実践モデルを明らかにすることを目的とした。

研究方法：低線量の放射線影響下の自治体保健師と放射線防護専門家、および公衆衛生看護研究者が協働して行うアクションリサーチを用いた。実践モデルは3つに類型化し、①保健師との協働事業の実施、②保健師活動の支援体制の検討、③近隣市町村、福島県、全国への実践モデルの普及・啓発、を行った。

結果：①保健師との協働事業の実施：多様な地区、対象に対して、既存の保健事業（健康相談・教育、母子広場など）に放射線に関する教育・相談などを組み込んで6回実施した。その結果、地区特性や対象特性に応じた個別の相談ができ、放射線に関する住民ニーズと生活実態を把握できた。また、保健師と放射線防護の専門家相互に放射線に関する住民対応を学ぶ機会となった。②保健師活動の支援体制の検討：協働事業実施時に、保健師と放射線防護の専門家の話し合いの機会を持った。放射線に関する保健師の個別の悩みや地区特性に基づく問題・ニーズが出され、保健師活動の支援につながった。③実践モデルの普及啓発：保健師実践に有用な放射線に関する情報発信のためにホームページを作成した。また本研究結果を関連専門職団体へ情報提供するとともに、関連学会・雑誌に公表し、国への提言を行った。

結論：住民の放射線防護文化形成のためには、放射線に関する知識提供および相談を既存事業に組み込んで実施することが、継続して無理なく行うために効果的であることが明らかとなった。また、保健師と放射線防護の専門家が協働で事業を行うことが、相互の理解を深め、保健師支援にもなることが示された。

キーワード：原発事故、保健師、放射線防護文化、アクションリサーチ

研究協力者

小西恵美子（鹿児島大学医歯学総合研究科・客員研究員）

菊地 透（自治医科大学RIセンター・管理主任）

荒木田美香子（国際医療福祉大学小田原保健医療学部看護学科・学科長・教授）

大森純子（東北大学・教授）

松成裕子（鹿児島大学医学部保健学科・教授）

矢吹敦子（福島県いわき市保健所・指導保健技師）

折田真紀子（福島県川内村・保健師、長崎大学）

川崎千恵（国立保健医療科学院・主任研究官）

北宮千秋（弘前大学保健学研究科・准教授）

研究参加者

小野若菜子（聖路加看護大学・准教授）

小林真朝（聖路加看護大学・助教）

三森寧子（聖路加看護大学・助教）

I 研究目的

原子力災害から2年以上が経過したが原子力災害の影響下の自治体住民の被曝に対する不安やストレスは継続している。国際放射線防護委員会¹⁾は、原子力災害復旧期を焦点とした勧告において、「公衆の健康と教育を担う専門職による国民的な放射線防護文化の普及が災害復旧の鍵である」と述べている。そこで、本研究は原子力災害の影響下にある住民の被曝に対する不安やストレスの軽減と質の高い生活のために、住民に実際的な「放射線防護文化」を形成する実践モデルを明らかにすることを目的とする。「放射線防護文化」とは、住民が放射線健康に関する環境のリスク要因の一つであると捉え、放射線防護の知識を日常生活に取り入れ、適切に使うとする住民の価値観でありライフスタイルである。保健師は公衆衛生の専門職であり、地域の生活実態をよく知っており、住民の健康意識を高め、よりよい生活習慣とするための活動、すなわち健康文化をつくるための活動を行っている。そこで、保健師は放射線防護文化形成の鍵と考え、自治体保健師と放射線防護の専門家および公衆衛生看護の研究者がチームを組んで、協働で研究活動を行うアクションリサーチ²⁾を行った。アクションリサーチは、各チームメンバーがそれぞれの専門知識を共有しながら問題を明確化し、計画立案、実施、評価、普及・フィードバックするすべてのプロセスを協働で行うものであり、刻々と変化する現実生活にリアルタイムで対応することを通して行われるものである。

今年度は、効果的な実践モデルを明確化して抽出するために、放射線防護文化形成のための実践モデルを3つに類型化して実施・分析した。

II 研究方法

1 研究対象のフィールド

研究フィールドは、福島県いわき市である。いわき市は、浜通り南部に位置する人口約33万人（2013.12.1現在）の福島県内最大の人口と面積をもつ中核市である。災害による被害としては、死亡者数446名（2013.12.9現在）、建物は全壊7,917棟（2013.11.25現在）、市外に避難している市民は3,419世帯、7,435名（2013.12.9現在）、市内へ避難している市民は23,164名（2013.10.1現在）である。放射線量レベルは市の中心部（平）で1時間あたり0.08 μ Sv（2013.12.15現在）と報告されている。

2 研究方法

本研究の用いるアクションリサーチ²⁾は、①現実問題を実際に解決する②研究者と当事者が協働する研究方法論である。直面する問題に対して、それぞれの専門性を生かし相互作用、試行錯誤しながらその時その場でもっともよい対応を見出し実践するという特徴がある。したがって、問題が生じている現場に応じたアップデートな解決方法を明らかにでき、さらに類似した状況下において適用できる実践方法論を見出すことが可能であると考えた。

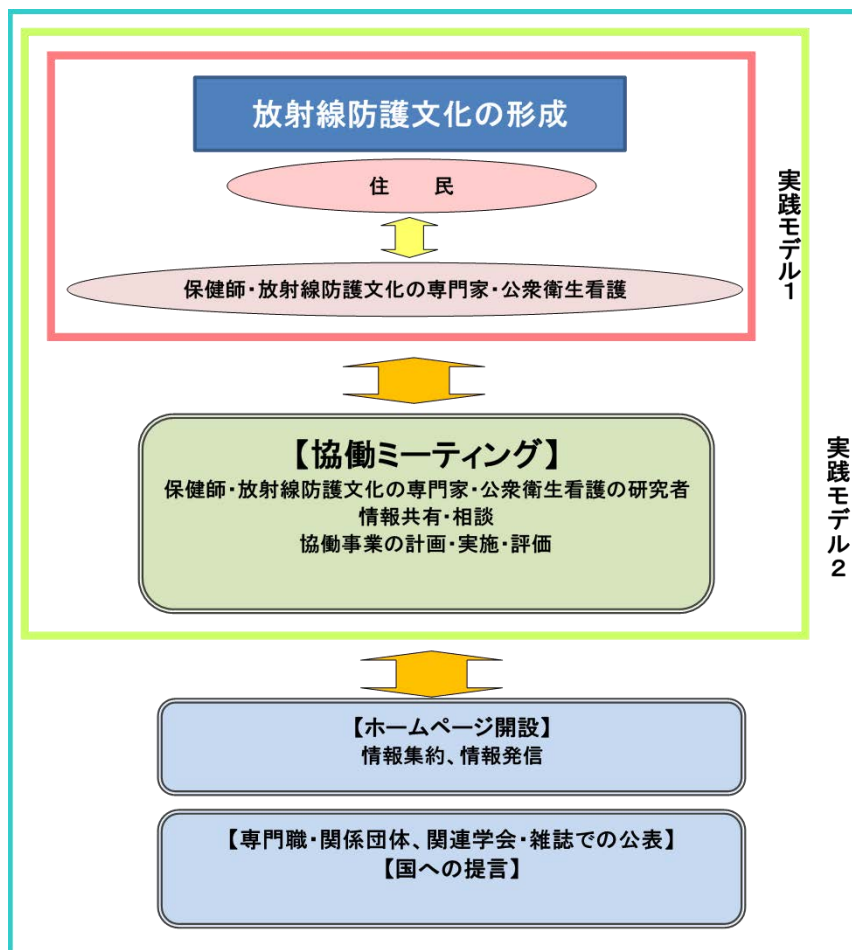
放射線防護文化形成のための実践モデルは、対象別に3つに類型化した（図1）。

実践モデル1：放射線防護文化形成のための住民に対する実践は、市の保健師と打ち合わせを行い、4つの地域で保健師が行っている子育て広場や高齢者のデイクラブなどの既存事業に、地区担当の保健師と研究者数名（放射線防護の専門家と公衆衛生看護の研究者）が放射線に関する講話とQ&A方式の相談を組み込み、6つの協働事業を実践した。

実践モデル2：保健師活動への支援として、実践モデル1を開始する前にいわき市の保健師と研究者がいわき市の状況についての情報共有や放射線に関する相談、協働事業の計画を行ったほか、既存事業実践後、放射線に関する相談について話し合う機会を設けた（協働ミーティング）。実践モデル1のなかでも、住民のニーズと専門家の住民への対応を学ぶ形で行った。また、昨年度のベラルーシへの視察で収集したロシア語資料を日本語に翻訳し、今後有用と考えられる資料の公開に向け準備を進めているほか、国内の放射線に関する既存資料を収集し、住民や保健師活動に必要な情報についての検討を行っている。

実践モデル3：近隣市町村、福島県、全国への実践モデルの普及・啓発として、関係団体への情報提供、学会等での研究知見の発表に加え、今年度は住民ならびに住民を支援する保健師への相談・支援体制づくりの一環として、ホームページの開設を行った。

図1 住民の放射線文化形成のための3つの実践モデル



これらの実践モデルの実践体制は、実践モデル1・2の住民に対する実践と地区担当保健師との話し合いを行った協働事業は研究者が分担して行い、実践モデル2のうち、いわき市の保

健師との合同ミーティングは研究者全員が参加した。また、実践モデル2の資料作成を行う「資料班」、実践モデル3のホームページ開設を行う「ホームページ担当班」、その他「全体のマネジメント担当」を決めて実践した。

3 倫理面への配慮

本研究は、疫学および臨床研究におけるガイドラインを適用した。具体的には、質問紙調査に関して、調査協力は自由意思によるものであり、回答をもって研究に同意が得られたものとした。面接調査（インタビュー）、参加観察、資料の閲覧に関しては、許可された範囲のみとし、実施に当たっては、責任者および対象者に十分な説明を行い実施した。データに含まれる個人情報にはコード化し、収集した調査データの保管は鍵のかかる場所に厳重に保管した。

本研究は、研究者が所属する研究倫理審査委員会の承認を得て実施した。

III 研究結果

1 研究結果の概要

今年度5回の研究班会議を実施して、研究の方針、実施方法および内容に関する検討やデータの分析を行なった。放射線防護文化形成のための住民に対する実践（実践モデル1）は、既存の保健活動の中で保健師と計画・実施・評価した（表1）。この協働事業から保健師は、住民ニーズや放射線防護の専門家の対応を学んだ（実践モデル2）。また、協働事業の前後で保健師と研究者が協働事業や保健師の放射線に関する相談について話し合いの機会をもった（実践モデル2）。このように、この協働事業は、放射線防護文化形成のための住民に対する実践モデル1と保健師活動の支援である実践モデル2が同時に行われた。

しかし、ここでは放射線防護文化形成のための有効な実践モデルが、現状の実践に容易に適用できるように、対象別の実践モデルごとに今年度の実践内容、結果および実施評価と、そこから明らかとなった有効な実践および実践上の課題を示す。

表1 既存事業における実践モデル1

日時	事業名	内容	担当者	参加者数
12月11日 9時30分～11時	精神障がい者社会復帰 促進教室 ナゴソ (勿来・田人地区)	ミニ講話 「生活の中でできる放射線防護」	菊地、小林	5人
12月18日 10時～11時	健康相談 (川前・宇根尻地区)	ミニ講話 「放射線とのつきあい方」	折田、麻原	22人
1月21日 10時～11時	健康相談 (川前・小白井地区)	ミニ講話 「放射線とのつきあい方」	折田、小野	23人
1月22日 10時30分～11時30分	子育てサロン (四倉・久ノ浜地区)	ミニ講話 「健康と外あそび」	菊地、川崎	12人
2月14日 10時～11時30分	母子教室 (平地区)	ミニ健康教育 「いわきの公園と外あそび」	小西、大森	30人
3月11日 10時～11時30分	母子教室 ナゴソ (勿来・田人地区)	ミニ講話 「食物や外あそび関係」	小西、荒木田 三森	14人

2 放射線防護文化形成のための住民に対する実践（実践モデル1）

住民に対する実践はもっとも重要な活動であり、住民に放射線防護の知識が広がらなければ意味がない。平成 25 年度は、保健師が行っている子育て広場や高齢者のデイクラブといった既存の事業に、地区担当の保健師と研究者数名（放射線防護の専門家と公衆衛生看護の研究者）が放射線に関する講話や Q&A 方式の相談などを組み込むよう計画・実施した。平成 25 年度は 6 つの協働事業を実践した。

1) 勿来・田人地区（担当：菊地・小林）

①方法・内容

月 1 回開催されている勿来・田人地区精神障害者社会復帰促進教室「青空クラブ」において、担当保健師と共に 2 時間のデイケアに参加し、個々の不安や質問に答える形で実践した。今回のデイケアのテーマは「放射線との付き合い方」であり、「食べ物の安全性を知ろう」では自家消費作物検査の見学を、「日常生活での放射線との付き合い方を知ろう」では、座談会形式でデイケア参加者の質問や不安について 1 つ 1 つ回答した。

②実践結果

参加者は 5 名（うちボランティア住民 1 名）と事業担当保健師 2 名、研究者 2 名であった。参加者の病状やコミュニケーション、関心の度合いは様々であり、すべての参加者から一様に不安や質問が挙がったわけではなかった。飲み水に対する不安としては、「水中毒で、水を沢山飲むから放射線が心配」「地下水は安全なのか？ 沢の水は飲んでよいか？」などが挙がり、食べ物に対する不安では、「道端のスイカを食べてしまったが大丈夫か？」「自家消費野菜は検査したほうが良いのか？」などの質問が出た。また、放射線被ばくへの不安として、「放射線は体に悪いのか？」「ホットスポットはあるのか？」という疑問、差別への不安として「福島の人とは差別されないか？」といった心配も表出された。

③実践評価

不安の度合いに個人差が大きく、住民の反応はまちまちであった。開始時は積極的な質問は見られなかったが、こちらから「これについてはどうですか。」と具体的な生活における事柄について話題を投げかけると、関連して質問や不安が出てくるという状況であった。参加者からは「直接聞けて良かった」という感想が挙げられた。

④効果的な実践

事業実践前に担当保健師とミーティングを行い、参加者の様子、留意点などを共有していたため、研究者が予め対象者の反応を想定しながら参加でき、場になじむよう自然な形での参加が可能になった。また、参加者の質問に 1 つ 1 つ丁寧に答えていくという実践方法が安心につながり、参加者特性からみて適切であった。

⑤実践上の課題（今後の実践モデル 1 のあり方）

精神疾患を抱えて生活する人々からは、普段は放射線への具体的な質問や不安などがあまり出てこなかったが、実際に聞いてみると、疾患特性にも関連する生活上の不安や疑問を抱えていることがわかった。今後も継続的に、こうした不安に対処していく必要があると考えられる。また本事業参加者以外の地域で生活する精神障害者への支援についても考えていく必要がある。

2) 川前宇根尻地区（担当：折田・麻原）

①方法・内容

社協に委託しているもので月1回開催されているイキイキデイクラブにおいて、老人クラブの人たちを対象に、放射線ミニ講話30分程度（PPTの資料）、質疑応答15分、アンケート調査30分位（健康相談の予定であったが時間がとれなかった）を実践した。食事会ということで地区の食事処で実践した。

②実践結果

参加者は講義を熱心に聞いていた。講義を受けて、川内村と川前地区が隣接していることもあり、状況が似ていてよくわかったという意見が出た一方で、食品検査の場所が川内村に比べ、本地区は遠いため、車でないといけないなどの意見が出された。また、旬のキノコやイノシシを食べてもよいか、食品検査をまだ行った方がよいかなどの質問が出された。東電への不満を訴える人も1名みられた。

③実践評価

質問は多く出されなかったが、参加者のアンケート結果では、「放射線の話聞いてよかった」「役に立った」という意見が最も多く、「不安が軽減した」「行政の違いを感じた」「食品の検査をした方がよいことがわかった」と評価が高かった。保健師からは、住民にとっては身近なこととして理解しやすかったのではないかが挙げられ、講義とQ&Aはよかったと評価された。一方で、保健師から「住民が放射線に関心があることがわかった」という意見が出された。

講義はわかりやすく、資料は適切で手元にあったため、確認しながら話を聴けてよかったとの評価が得られた。しかし、全体の時間が足りず、健康相談の時間が確保できなかった。またアンケートは字を大きくする、高齢者には聞き取りをするなどし、そのための時間の確保が必要であった。資料も一部字が小さい箇所があった。

④効果的な実践

Q&Aの時間を設けたこと。出された質問は参加者に共通するものであったため、参加者全体で理解を深めることができ、共通の認識をもつ（文化の形成）に寄与したと考えられる。手元に資料があったこと、隣接した地域の具体的な内容であり理解しやすかった。忘年会というイベントとして企画されたことで、住民は違和感なく放射線的话题を受け入れることができたのではないかと。また、保健師からは、住民が放射線に関心あること、地区の実情、住民の声、地区の健康課題を把握できたと評価されたことから、協働実践の効果と言える。また、講義やQ&Aから保健師自身が放射線や放射線防護について学んだ（構成に安全・安心を残すために経年的にデータを残す必要がある）。保健師はこの地区ではあえて放射線の話をしていなかったとのことであったが、保健師と一緒に計画・実践することで保健師自身が放射線に関心を持ち、調べる機会となった。また、現状において保健師が行うべきことに気づき、次の協働事業の実践を考えるなど、動機づけと事業の発展につながった（保健師は放射線に限らず、安全・安心して暮らせるまちづくりおよび住民の健康づくりを目的に保健活動を実践している。一人でも多くの住民の士気を高める活動を継続することが重要）。

⑤実践上の課題（今後の実践モデル1のあり方）

時間が十分に取れず、健康相談ができなかった。余裕ある時間設定を行う必要がある。アンケート調査は高齢者の場合時間がとられるので、その場で聞くなど、評価方法を検討する必要がある。健康相談の中で放射線に関連した話が出た時に情報提供するなどにより、住民に無理

なく受け止められ、生活習慣に基づいた話もできる。さらに住民は、生活習慣の中で放射線防護をとらえることができるだろう。地区により生活、文化が異なるため、地区ごとの実践が必要である。また既存の事業に組み込むことで無理なく実践できる。

3) 川前小白井地区 (担当：折田・小野)

①方法・内容

いわき市川前小白井地区の老人会メンバーに向けた既存事業(第10回生き生きサロン小白井「のんびりゆったり鬼ヶ城健康教室」)に社会福祉協議会職員2名、保健師2名とともに、研究者2名が参加した。研究者は、ミニ講話「放射線との付き合い方」を実践し、放射線に関しての相談を受けた。また、健康相談を行う日であり、保健師と研究者は、健康相談を行い、参加者との対話を持ち、その中で放射線に関するヒアリングを実践した。

②実践結果

参加者は23名(男性5名、女性18名)、70-80歳であった。参加者からの相談内容としては、時期的に除染をした後だったので、除染に関する不安が上がった。また、井戸水や水道水など飲み水に関する不安、被ばくを予防する方法を教えてほしいといった声が数名から聞かれた。食品への不安は、落ち着いてきており、現在の具体的な疑問は聞かれなかった。

③実践評価

住民からは、このような話を聞く機会はなかったのでよかったというコメントがあった。また、ミニ講座の中で、川内村の復興活動を紹介したので、身近な村の様子がわかってよかったという声が聞かれた。原発問題に対する住民の不安は消えないながらも、本日、参加した高齢者は、農業を続け、生涯現役を実践している人々なので、自分の生活に自信をもっている様子であった。保健師からは、パートナーシップ事業が2回目になり、1回目の反省を生かして時間配分やアンケートを取りながら健康相談することで、参加者の声を聞くことができたという反応があった。

④効果的な実践

集団教育で実践し、質疑応答の時間を設け、住民の声を聞くことができた。一方、高齢であり、アンケートの十分な記載が難しく、健康相談をしながら、保健師と研究者、社会福祉協議会職員が聞き取り調査した。住民の話聞くために、研究者が事業に参加する形は入りやすかった。

⑤実践上の課題(今後の実践モデル1のあり方)

現在、放射線防護について、具体的な不安をあまり表出しない人々にしなければいけない関わりは何なのか、また、不安の強い人に対しては、個別支援をしていくこと等、検討していく必要がある。

4) 四倉地区 (担当：菊地・川崎)

①方法・内容

月1回、地区に住む未就園児(主に0~3歳)とその保護者を対象に行われている子育てサロンにおいて、通常行っているミニ講話の場を活用し、「子どもの健康と放射線との付き合い方」と題する講話と質疑応答を、子育てサロン参加者(母子、民生員、児童委員)に対して行った。(講話約20分、質疑応答20分+節分のおやつタイムにおける母親との対話約20分)

②実践結果

参加者は12名（その他に民生委員・主任児童委員10名）であった。熱心に耳を傾け、質疑応答が行われるなど、母親や民生委員・主任児童委員が抱えている不安や疑問が明らかになった。参加者からの相談内容は、主に、食と飲料水の選択における安全について（家庭菜園で収穫したもの、山菜、マツタケ、沢の水、井戸水、魚の安全）、子どもの外遊びについて（砂遊び）、子どもと大人の健康管理について（甲状腺検査結果に対する疑問や不安）であった。事後アンケートの結果、安心した、今更聞きづらいことを聞いた、不安が軽減した、ためになった等の感想がみられた。

③実践評価

普段放射線についての相談はなくなっている地区だが、アンケート結果から参加者が普段なかなか聞けないことを聞いたことで、安心感を得られており、協働事業は参加者のニーズに即していたと考えられた。

④効果的な実践

講話の内容を考える際、前月に地区担当保健師が行った事前アンケート（「放射線に関する質問・疑問・不安について」、自由記載形式）の結果を踏まえた内容とするとともに、質疑応答の時間（自由に質問できる時間）を長くしたことで、参加者が疑問や不安に思っていることに対して1つずつ回答できたことから、参加者のニーズに即した協働事業となったのではないかと考えられた。また、手持ち資料を配布することで、子どもがそばにいて集中して聞けなくても、話の内容を確認できたのではないかと考えられた。行事（イベント）などと抱き合わせで行い、専門家と気軽に話せる場を持つと、住民も不安や気がかり、疑問を専門家に聞きやすいと考えられた。

⑤実践上の課題（今後の実践モデル1のあり方）

子どもが一緒のため、集中して話を聞くことができなかった人もいたことから、母子分離などの対応が検討課題である。また、参加者がサロンに来られる人に限定されるため、協働事業の開催場所を増やす、あるいは民生委員や児童委員を対象に行い、地域の人たちと共有してもらうことも検討課題である。

5) 平地区（担当：小西・大森）

①方法・内容

2ヵ月に1回開催されるママ広場（対象：37歳以上で出産した乳幼児の母親）にて、バレンタインデーのサプライズ企画として講話（40分）と対話（30分）を行った。教材には、「子どもの健康と放射線」（パワーポイント18枚分）を用いた。講話は車座になり、日光浴不足の問題、公衆の放射線被ばく量、科学的に障害を与える線量（100mSv）いわき市ホームページで公開されているデータ、保健師からの事前情報に基づく母親の不安（外遊びや飲み水など）について説明した。対話は自由参加の形式で、母親同士が日ごろの疑問や不安について意見交換を行えるように促しながら、専門的な視点からコメントをした。

②実践結果

参加者は、30名（母親14名・乳幼児16名）であった。参加者は熱心に講話の最後まで聴いていた。熱心にメモをとる様子もみられた。対話まで参加した母親たちは10名程度であった。飲料水の選択、子供の遊び場の判断、家族の健康管理、教育機関（幼稚園・小学校）の対応からくる不安、放射線のことはお互いに触れないようにしていることなど話題になった。対話の後半では、「普通に生活していいんですね」と普通の生活ではなくなっていることへの気づき

が起こり、「夫に話してみる」「近所にも言おう」と家族やご近所など身近な人たちに発信したいとの発言がきかれた。

③実践評価

住民からは、個別の日常の不安や疑問について質問ができ、その場で解消できた、話題にしないようにしていた放射線のことを話しあえて胸の内を共有できた、普通の生活ではなくなっていることに気づき、意識の変容が起こった、参加者同士が不安や疑問の共有ができたことで更に不安の軽減につながった、などの声がきかれた。保健師からは事後の記録で、放射線について情報共有を望んでいることがわかった、放射線について誤解をしたまま生活している人がまだまだいるのだと思った、乳幼児施設においても未だ砂場が覆われたままである現状を知った、などの意見がきかれた。これに対して研究者は、住民同士の対話によって生活スタイルを元に戻すことができるとわかったと感じていた。また、保健師と研究者が共通して感じていたこととして、住民の反応からニーズを直接把握できる機会となった、地域の現状（教育機関の対応・住民の日常）を知る機会となった、普通に生活していないことに気付くニーズの掘り起こしができた、などがみられた。

④効果的な実践

研究者は、車座で行い個別相談から全体で意見交換できるように雰囲気をつくったこと、子どもの健やかな育ちを一番に考えるようにメッセージし続けたこと、普通ではないことはなぜそうする必要はあるか考えるように返したことが効果的であったと考えた。また、保健師からは事後のアンケートなどで、地区で定期的に行われている保健事業に組み込んだことや、バレンタインデーのサプライズ企画として紹介・導入したこと、母親が話に集中できるように保健師と看護師が子どもの世話をしたことが効果的であったとの意見があった。

⑤実践上の課題（今後の実践モデル1のあり方）

今後の実践上の課題（実践モデル1のあり方）として、祭事や既存事業のミニイベントに合わせて実践すると住民の受け入れもスムーズであり、研究班の同じメンバーが「その後どうですか？」とフォロー対話を行う必要があること、日常の諸々の選択について自分で判断できるようになるためには継続支援が必要であること、自分で調べたいと思った時に使える情報源の紹介と情報のとらえ方の支援も必要であること、地域の教育機関（小学校や幼稚園）を対象とした教育も必要であることなどが考えられた。また、参加者を通して、「いつも通り生活していいのだ」ということを、家族や近所の人にも話してもらうことが重要であると考えた。

6) 勿来・田人地区（担当：小西・荒木田・三森）

①方法・内容

1歳未満の児とその母を対象とした育児不安対策事業「スマイルベビークラブ」において、地区の保健師と共に住民（母親）向けに「子供の健康と放射線」というテーマでパワーポイントの資料を用いたミニ講話を40分実践し、質疑応答の中で参加者同士が自由に思いを分かち合う場を30分程度持った。

②実践結果

参加者は14名（母親7名、乳児7名）であった。我が子がぐずったり授乳したり中断せざるを得ない中で、一生懸命講話を聞き、積極的な反応を示していた。家庭菜園を始めてよい、刺身は食べてよい、水道水が安全と聞いて安心したという発言やアンケート結果から、日常生

活において抱いていた疑問や不安が軽減されたことがわかった。今回の対象者が、震災から2年後に生まれた子供をもつ母親であったため、甲状腺がんのことなどをはじめ、これからどのような影響があるのかなど、放射線について考えるきっかけになり得たようである。

③実践評価

放射線については気にしていない様子であったが、講話を通した一人ひとりの感想からは、細々と心配事が入っており、気になっていたことを放射線の専門家に直接聞いたことで、参加者それぞれが安心感を抱いていた。

④効果的な実践

今後の実践上の課題（実践モデル1のあり方）として、保健師と住民の信頼関係が構築されていることや、保健師が専門的な内容をわかりやすくまとめて母親に伝えられること、事前アンケートを活かした講義内容とすることが考えられた。また、実践の形態としては、対話形式で全員が輪になって話し合える雰囲気効果的であると考えられ、赤ちゃんがいることで場が和み、母親自身も赤ちゃんと一緒にいられることで安心していられたのだと考えられた。

⑤実践上の課題（今後の実践モデル1のあり方）

「放射線」という言葉を全面に出すと、住民は参加しない傾向にあるため、安心・安全に生活をするということについて、住民が主体的に考えられるように保健師は今後の支援を考えていた。時間の経過とともに変化していきだろろう住民のニーズを踏まえつつ、保健師として必要と思う活動について、共に話し合ったり、情報交換をしたり関係性を継続していくことが重要である。

3 保健師活動の支援（実践モデル2）

保健師の放射線に関する相談や協働事業についての話し合いは、協働事業の前後で時間を取って実践した。また、保健師活動に有用な住民相談・教育用のパンフレット作成のための資料収集、検討を行った。

1) 協働事業における保健師活動の支援

(1) 勿来・田人地区（担当：菊地・小林）

①方法・内容

事前コンサルテーション（約2時間）：

保健師と研究者が、事前（事業前）に対面で打合せをすることで、お互いに安心して事業に入っていくことができたと考えられる。どのように研究者が入ってくるか（特に精神ケアでは、研究者の参加姿勢や話す内容などが参加者に影響（不安や集団の中での違和感）を与えないかなど）は保健師にとって懸案であると思われ、事前打ち合わせは必須であったと考える。また、地域の住民の生活状況や保健師活動など広く話を伺い、いわきや地区の状況を教えてもらった。

事後コンサルテーション（約40分）：

今回は当該地区での初回の事業参加であったため、当該事業だけでなく、この地域の状況や保健師のかかえている課題などを共有した。また、今回の事業の持ち方（研究者のかかわり方など）が適切であったか、今後同事業で放射線のことをどのように扱っていくべきかを話し合った。

②実践結果

自分の思いを表出することに不安がある、今まで抑えてきたものを表出してしまったら、その後自分が保てなくなるのではないかという不安がある、あの日あの時にすぐよみがえってしまう、保健師としてやるべきことをやれたのか逡巡している、自分も同じ住民なのに行政の人間としてのジレンマがある、いつまでも支援を受ける立場で自立できないもどかしさがある、などの思いが表出された。

③実践評価

初回ということもあり、地域のこれまでや現況、保健師の思いや経験してきたこと、課題などを教えていただくことに時間を割き、今後の解決策を見出す方法などを話す時間は確保できなかった。別に時間を設ける必要があると思われた（その地区での最終回後に、しっかり時間を取るなど）。

④効果的な実践

昼食をとりながら、雑談や最近の話題などから話し始め、地域の現況についてこちらが教えてもらうという形で話を伺っているうちに、抱えている思いなどを表出してくださった。構えずざっくばらんに話せるような雰囲気の設定が必要であると考えられた。

⑤実践上の課題（今後の実践モデル2のあり方）

これまで保健師などによりサポートを受けてきた住民や、住民支援の場での活動サポートよりも、保健師自身について支援する必要性のほうが、喫緊の課題として感じられた。思いや経験の表出を、どのような形でなら過剰に勧奨するのではなく負荷が少なく行えるか、検討が必要であると感じた。同じ市の保健師とはいえ、してきた経験や思いは「全く違う」という意識があり、単に保健師同士で話し合えば表出できることではないと感じ、そこに、立場の違う人間が入ることの効用があると考えられた。また、保健師の経験を整理し、まとめていくことが研究者にできることではないかと考えられる。

（2）川前宇根尻地区（担当：折田・麻原）

①実践・内容

地区担当保健師2名、社協職員1名、研究者2名で15分程度行った（11：45-12：00）。食事に呼ばれたため、十分な時間を確保できなかった。

②実践結果

保健師活動に必要な放射線の知識とは、保健師に除染の知識が必要か、放射線の説明に納得しない住民への対応、県民健康管理調査未提出の住民への対応について質問があった

③実践評価

保健師からは、放射線に関心を持つことができた、放射線を学ぶ機会になった、これからの課題を考えるようになったと評価された。また、話し合う時間を設けることで互いの感想や考え方を共有できたとの意見が出された。研究者とのやり取りを通して保健師と研究者と関係づくりができたとの意見もあった。しかし時間が足りず、食事に呼ばれたため落ち着いて十分な話し合いができなかった。

④効果的な実践

事業実践場所とは違う場所で保健師、社協職員、研究者だけで話し合いの場を持つことが効果的な実践と考えられた。

⑤実践上の課題（今後の実勢モデル2のあり方）

話し合いは、時間的な余裕をもって、落ち着ける場の設定が必要である。保健師の持つ割り切れなさが表出できるようにする必要がある。地区ごとの保健師への個別対応が重要である。また、保健師から一人でも多くの住民の士気を高める活動を継続するために、どのように始めればよいか今後も助言が欲しいとの要望があり、継続した関係づくり、協働が必要である。保健師と研究者と関係づくりができることで、より具体的で問題の核心に迫った保健師からの相談ができると考えられる。保健師から折田さんのような放射線の専門知識を持つ保健師が必要であるとの意見も聞かれた。このような保健師の育成と配置が期待されるとともに、保健師にはどのような知識と活動が必要かを明確にしていく必要がある。

(3) 川前小白井地区 (担当：折田・小野)

①方法・内容

いわき市川前小白井地区の老人会メンバーに向けた既存事業（第10回生き生きサロン小白井「のんびりゆったり鬼ヶ城健康教室」）に社会福祉協議会職員2名、保健師2名とともに、研究者2名が参加した。事業終了後、保健師2名、社会福祉協議会職員2名と研究者2名で振り返り、話し合いの時間を40分設けた。

②実践結果

自由に意見を出し合う形ですすめ、次のような内容が話し合われた。

ボディーカウンターなどの測定は、知らなくて受けていない人もいるが、今までに何か測定をして大丈夫と確認した経験がある住民もいる。現在住民は、放射能が低いということを知って、安心している時期だろうという意見がみられた。放射線に関する課題としては、除染などの廃棄物の処理、食品検査の評価の仕方などの意見があがった。

また、放射能問題の漠然とした不安は消えず、子ども、若者が帰らない村になっている現状については、家族背景などの事情も絡み状況は複雑であることや、高齢者は、自分たちは年なので現状でよいという考えを持っている人もいて、今後、住民にさらに放射線教育をする必要があるのかの判断が難しいなどの意見があがった。

その他、放射能の現状を伝えるのは保健師ではなく、健康影響は保健師、除染は担当者が伝えればよいのではないかと、ただ住民にかかわる保健師は、自治体の放射線に関する活動についても尋ねられるので、行政職として答えられるように知識を持っておく必要がある、といった意見があがった。

③実践評価

話し合う時間を設けたことで、お互いの感想や考え方を共有できた。40分という短時間だったので、もう少し時間があってもよい。

④効果的な実践

保健師は、住民と放射線に関して話をする機会があり、状況によっては、行政職としての立場から、どのように発言したらよいか迷いを抱く。放射線に関して、具体的な保健師の疑問に答えられるような放射線専門家の情報提供やアドバイスが大切であると考えられた。

⑤実践上の課題 (今後の実践モデル2のあり方)

保健師に必要な放射線情報のアップデートを支援していく必要がある。具体的な疑問には、放射線専門家が答える形式で支援することも役立つであろう。また、解決できなくても、地域の課題を共有することは、研究者-保健師間だけでなく、保健師どうしでも必要かもしれない。