

放射線の健康影響に係る研究調査事業 令和4年度研究報告書

研究課題名	複数の生物学的指標を組み合わせた長期放射線影響の予測と社会実装に向けた取り組み
令和4年度研究期間	令和4年4月1日～令和5年2月28日
研究期間	令和3年度 ～ 令和5年度 (2年目)

	氏名	所属機関・職名
主任研究者	盛武敬	量子科学技術研究開発機構・部長
分担研究者	中村麻子	茨城大学・教授
若手研究者		

キーワード	放射線、レドックス、ミトコンドリア、DNA、晩期障害、バイオドシメトリ
-------	-------------------------------------

本年度研究成果
<p>I 研究背景¹⁾</p> <p>原子力災害等に起因する予期せぬ放射線被ばくでは、多数の放射線業務従事者や周辺市民が被ばくし、生命や健康が脅かされる恐れがある。放射線災害発生後の初期対応において、対象者の被ばく線量を推定することは緊急被ばく医療の優先度の決定および選別のために非常に重要であると同時に、災害発生数年～数十年後に発生しうるがん、白内障、心疾患などの晩期障害発症リスクを見積もる上でも重要である。一方で、被ばく線量から推定できるのは晩期障害発症リスクであって、将来的にその疾患の発症に繋がるバイオインディケータ―や初期症状はほとんど同定されていない。</p> <p>酸化ストレスは様々な病気との関連が指摘されており、放射線においても照射された細胞でミトコンドリアからの活性酸素が増加し、細胞死や細胞老化の一因となっていることが報告されている²⁻⁴⁾。また、慢性的に放射線被ばくを受ける医療従事者、福島第一原発事故で被災した牛、チョルノービリ原発付近の高線量地域に生息する松の木に関する調査でも、酸化ストレス関連指標が増加しているとの報告がある⁵⁻⁷⁾。興味深いことに、多くの放射線晩期障害(例えば、がん、白内障、高血圧、慢性炎症、動脈硬化など)は、酸化ストレスの亢進によっても引き起こされる⁸⁾。これらのことから、放射線晩期障害の発症は被ばくによる酸化ストレスの増加によって仲介されている可能性があると考えられており、我々は、放射線被ばくという物理現象と生物影響とをつなぐ鍵として、酸化ストレス(関連指標)に着目している。</p> <p>II 目的(①⑤⑥を盛武が担当、③④を中村が担当、②を志村(研究協力者)が担当)</p> <p>① 昨年度までに、ミトコンドリア損傷(Parkin)、抗酸化指標(Nrf2)、全血抗酸化能(i-STrap)がバイオドシメトリ指標として有用であり、さらにこの3指標とDNA損傷(γH2AX)を組み合わせることで(4指標の組み合わせで)、被ばく線量をレトロスペクティブに推定できる(急性被ばく、被ばく後1～7日間)ことを、明らかにした。今年度および来年度は、慢性被ばくでの推定精度の確認を行う。</p>

- ② 上述の通り、被ばく後にミトコンドリアの代謝異常が見られることから、ミトコンドリア解析を通して、さらに新規のバイオドシメトリ指標を探索する。
- ③ テロメア長変化が新規のバイオドシメトリ指標となりうるか解析する。
- ④ 迅速に DNA 損傷(γ H2AX)を評価する PDMS チップを開発する。
- ⑤ 抗酸化能関連指標が晩期障害(白内障)のバイオインディケーターとなりうるか解析する。
- ⑥ 福島野生ニホンザルの抗酸化能を解析する。

III 研究方法

- ① 量子技術研究開発機構(量研)でガンマ線の連続照射($0.105\text{mGy}/\text{min} \times 476$ 時間=20 日間で 3Gy、または $0.21\text{mGy}/\text{min} \times 238$ 時間照射=10 日間で 3Gy)照射し、照射終了後 24、48、72、168 時間後に採血した。全血 $100\mu\text{L}$ を i-STrap に供して、残りの血液からリンパ球を抽出し、茨城大と保健医療科学院へ送付し、茨城大が γ H2AX、保健医療科学院が Parkin と Nrf2 の評価を行った。
- ② 新たな生物学的指標としてミトコンドリアタンパク質 Tom20 とエネルギーセンサーである AMP 活性化プロテインキナーゼ(AMPK)の活性化を検討した。
- ③ ヒト初代培養細胞に 0.5, 2Gy 照射後、1 日～4 週間の経時的なテロメア長変化を測定した。
- ④ 放射線照射した血液サンプルに対して、照射線量を秘匿化したのち、開発した PDMS チップを用いて γ H2AX レベルの検出および線量推定を行った。
- ⑤ 量研のガンマセルを用いて、放射線白内障へのなりやすさが異なる複数系統のマウスに 5Gy を急性照射($0.5\text{Gy}/\text{min}$)後、経時的(50 日後 100 日後・・・)に採血し、抗酸化能を測定している。照射後 300 日と 600 日にはマウスを安楽死させて、水晶体の状況を観察する予定である。また、上記①で使用したマウスの水晶体を回収し、抗酸化能を解析している。
- ⑥ 福島の提携自治体で処分されたニホンザルから血液を採取し、抗酸化能の解析を行っている。

IV 研究結果、考察および今後の研究方針

- ① i-STrap で総線量を 3Gy とした場合、 $0.21\text{mGy}/\text{min}$ (10 日間照射)以上の線量率で有意な抗酸化能低下が認められたが、 $0.105\text{mGy}/\text{min}$ (20 日間照射)では有意な抗酸化能の変化が認められなかった。Parkin、Nrf2、Tom20 では、 $0.21\text{mGy}/\text{min}$ の 10 日間照射で照射 1～3 日後に増加傾向が見られたが、個々の指標で有意差を観察できなかった。 γ H2AX は解析中である。
- ② AMPK の活性化は 3 Gy の照射 1 日後に観察された。TOM20 の発現量は 3 Gy の照射 1 日後に増加し、照射 2 日後には減少した。
- ③ 0.5Gy 以上の被ばくによるテロメア長短縮が検出されたことに加え、その短縮レベルは被ばく後 4 週間にわたり、同レベルで継続して検出された。
- ④ PDMS チップでは 1Gy 以上の推定被ばく線量評価が可能であることが示された。
- ⑤ 本申請書作成時点で照射後 200 日を経過しており、経過観察中である。被ばく後の抗酸化能の変化パターンはマウスの系統によって異なる傾向が見られた。
- ⑥ これまでに合計 67 匹分のサンプルを収集した。

V 結論

繰り返し実験によりデータを積み上げている最中であるため、現時点で何かを結論づけるのは困難であるが、テロメア長が長期安定な被ばくのマーカーとして有望であると考えられる。マウスの系統

によって被ばく後の抗酸化能の変化パターンが異なることは、ヒト集団(性別・年齢・人種など)においても変化パターンが異なる可能性があり、今後放射線治療患者を対象とした臨床試験によりヒトでの変化パターンを明らかにする必要がある。PDMS チップも同様に、ヒトサンプルによりその有用性を明らかにする必要がある。来年度は本研究計画の最終年であるため、データを取りまとめ、結論づけをして行く予定である。

(倫理審査等)

本研究にかかるマウス実験は量子科学技術研究開発機構動物実験委員会の承認を得ている(承認番号：21-1017)。なお、野生ニホンザル試料に関しては、自治体によって駆除されたサルから入手しているため、動物実験に該当しない。

引用文献

1. 盛武敬、中村麻子、複数の生物学的指標を組み合わせた長期放射線影響の予測と社会実装に向けた取り組み、令和3年放射線健康管理・健康不安対策事業（放射線の健康影響に係る研究調査事業）報告書、2022, 187-222. <https://www.env.go.jp/content/000120095.pdf>
2. Kobashigawa S, Kashino G, Suzuki K et al., Ionizing radiation-induced cell death is partly caused by increase of mitochondrial reactive oxygen species in normal human fibroblast cells. *Radiat Res*, 2015; 183: 455-464.
3. Ogura A, Oowada S, Kon Y et al. Redox regulation in radiation-induced cytochrome c release from mitochondria of human lung carcinoma A549 cells. *Cancer Lett*, 2009; 277: 64-71.
4. Tominaga H, Kodama S, Matsuda N et al., Involvement of reactive oxygen species (ROS) in the induction of genetic instability by radiation. *J Radiat Res*, 2004; 45: 181-188.
5. Volkova P Y, Geras'kin SA and Kazakova EA, Radiation exposure in the remote period after the Chernobyl accident caused oxidative stress and genetic effects in Scots pine populations. *Sci Rep*, 2017; 7: 43009.
6. Urushihara Y, Kawasumi K, Endo S et al., Analysis of plasma protein concentrations and enzyme activities in cattle within the ex-evacuation zone of the Fukushima Daiichi nuclear plant accident. *PloS one*, 2016; 11: e0155069.
7. Malekirad AA, Ranjbar A, Rahzani K et al., Oxidative stress in radiology staff. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2005; 20: 215-218.
8. Sun L, Ynaba Y, Sogo Y et al., Total body irradiation causes a chronic decrease in antioxidant levels. *Sci Rep*. 2021; 11, 6716.