

## 不溶性セシウム粒子による生物影響の解明に向けた

### 分野横断的共同研究

主任研究者	鈴木 正敏（東北大学災害科学国際研究所・講師）
分担研究者	二宮 和彦（大阪大学大学院理学研究科・助教）
分担研究者	遠藤 暁（広島大学大学院工学研究科・教授）
分担研究者	山田 裕（量子科学技術研究開発機構 量子医学・医療部門・部長）

#### 研究要旨

東京電力（株）福島第一原子力発電所の事故（福島第一原発事故）によって、水に不溶な粒子状の形態で放射性セシウムが放出（不溶性セシウム粒子）されたことが知られている。福島第一原発事故以前に環境中に放出された放射性微粒子は核燃料断片であるために高い放射能を有し、不溶性セシウム粒子とは生成過程や性状が異なる。本研究課題では不溶性セシウム粒子の性状解析とその結果を取り入れた局所被ばく線量評価、生物影響解析を包括的に実施する分野横断的共同研究を実施し、福島第一原発事故で放出された不溶性セシウム粒子が環境リスクとなるか否かの検討を通じて環境保健行政に資する基礎的な知見を集約する課題である。

土壌から分離した不溶性セシウム粒子の中でも粒径が大きく、高い放射能を有するタイプ B 粒子について性状解析を行い、これまで報告されてきたように二酸化ケイ素を主成分として Cs-137 を含むことに加えて、Sr-90 と Pu-239+240 が Cs-137 に対して  $10^{-4}$ 、 $10^{-8}$  オーダーで含まれていることを明らかにした。被ばく線量評価では肺胞モデルを作成し、肺胞上皮細胞における線量評価体系を確立した。不溶性セシウム粒子の沈着場所周辺では  $\beta$  線由来の線量率が高くなる領域が生じる。肺全体で平均化する線量評価モデルでは、不溶性セシウム粒子による  $\beta$  線が到達する高い線量領域では過小評価となり、粒子から離れて放射性セシウムの  $\gamma$  線の寄与が高くなる領域でも線量率が大きく異なることが確認された。このため、局所被ばくによる線量を肺全体で平均化するモデルによって評価することは困難であることが示唆された。また、タイプ B の不溶性セシウム粒子を用いた細胞影響解析では、特に粒子から離れて  $\beta$  線の寄与が少ない領域にあるヒト正常細胞に生じる DNA 二重鎖切断数が、短時間・均等照射時に誘発される DNA 二重鎖切断数よりも多くなること、また粒子との共培養時間に依存して DNA 二重鎖切断が蓄積していくことを明らかにした。このように、被ばく線量評価や細胞生物実験結果では、従来知見が蓄積されてきた均等被ばくのモデル・結果から局所被ばくについて単純に推定することは難しく、局所被ばくについて独自の線量評価系の確立や、細胞影響メカニズムを構築することが過大あるいは過小評価のない局所被ばく影響の解明に重要となることが明らかとなった。

また、ラットに非放射性的の不溶性粒子を気管内投与し、肺の組織標本作製して病理診断を行い、低容量の不溶性粒子投与によって明確な組織形態の変化がみられない場合における肺胞上皮細胞と肺胞マクロファージの免疫組織染色評価法を検討した。

キーワード：不溶性放射性微粒子、局所被ばく影響、微量元素分析、  
モンテカルロシミュレーション、被ばく線量評価、病理診断

## 研究協力者

五十嵐康人（京都大学複合原子力科学研究所・教授）、小嶋光明（大分県立看護科学大学看護学部・准教授）、甲斐倫明（大分県立看護科学大学看護学部・教授）、佐藤志彦（日本原子力研究開発機構廃炉環境国際共同研究センター・研究員）、末木啓介（筑波大学アイソトープ動態研究センター・教授）、福本学（理化学研究所革新知能統合研究センター・客員主幹研究員）、三浦富智（弘前大学被ばく医療総合研究所・教授）、森口祐一（東京大学大学院工学研究科・教授）

## I. 研究目的

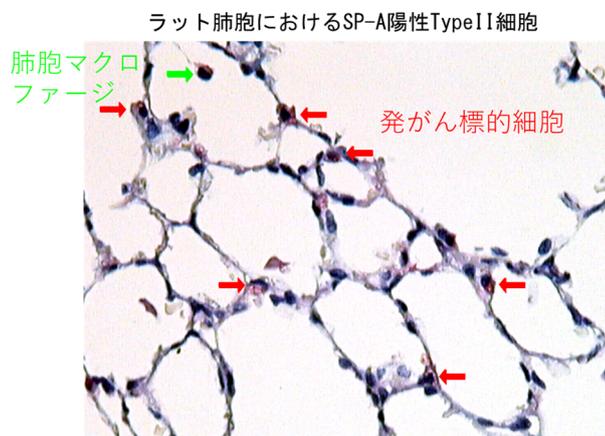
福島第一原発事故では放射性セシウムが複数の形態で環境中に放出されたことが明らかになっている。主要な放出形態である水溶性放射性セシウムについては、過去の原子力災害事故の教訓として環境および体内での分布・動態に関する知見が収集されている<sup>1)</sup>。他方、水溶性以外の形態として水に不溶な微粒子（不溶性セシウム粒子）として放出された後に、エアロゾルに含まれて関東地方などの広範囲に放散していたことや、福島県内の旧警戒区域の土壤に沈着していることが確認されている<sup>2,3)</sup>。福島第一原発事故から5年以上が経過した後に採取した土壤からも不溶性セシウム粒子が見つかることから、環境中で比較的安定して存在すると考えられている。福島第一原発事故以前にも核実験やチェルノブイリ原発事故の際に放出された不溶性の放射性微粒子（ホットパーティクル）が環境中で確認されていた。このときに放出された粒子は核燃料断片に由来していたので、生物作用が大きい $\alpha$ 線を含む様々な放射線を放出し、 $10^6$  Bq オーダーの高い放射能を有する粒子も含まれていた。不溶性粒子は水溶性の形態と比べて体外に排出されにくくなるので、放射性微粒子を体内に吸引摂取すると呼吸気道内、特に肺内に長期間沈着するために局所的で長期の内部被ばく要因となる（表I-1）。

表I-1 吸入された不溶性粒子の体内動態

	大部分	1%未満
呼吸気道から除去される機序	線毛運動クリアランス	肺胞マクロファージにより貪食され長期間滞留（一部溶解）
呼吸気道から除去された後の挙動	嚥下により消化管に入り糞便排泄	マクロファージごとリンパ節を通じて各組織へ移行し長期間滞留（溶解後の核種は血中に入り排泄）
体内滞留時間	短い	長い

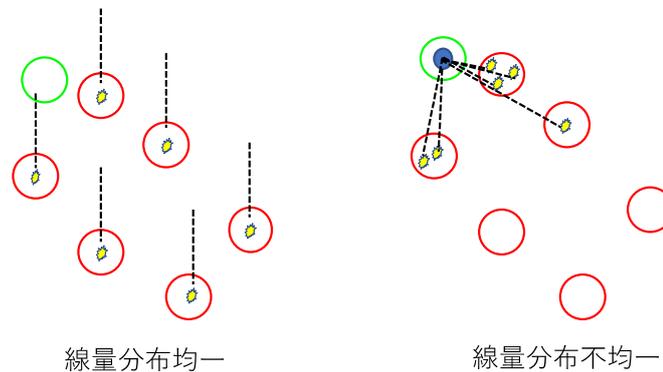
粒子近傍の細胞が持続的に放射線に暴露することによって、ホットパーティクルのように高い

放射能を有する粒子の場合には急性障害やがんなどの晩発影響を起こすことが懸念される（図I-1）。



図I-1. 肺胞において粒子を貪食するマクロファージと発がん標的細胞であるII型肺胞上皮細胞

このため、高い放射能を有する不溶性粒子は、原子力災害時の環境リスクとして考慮することが必要となる。一方で、福島第一原発事故の際に形成された不溶性セシウム粒子は核燃料断片とは異なり、ガス状の放射性セシウムが原子炉外に放出される過程で二酸化ケイ素 ( $\text{SiO}_2$ ) を主成分とする材質に凝集して形成したメカニズムが仮説の一つとして考えられている。不溶性セシウム粒子に含まれる主な  $\gamma$  線放出核種は放射性セシウムのみであり、環境中に放出された不溶性セシウム粒子の中でこれまでに報告された高い放射能は数千 Bq であった。以上のように不溶性セシウム粒子は放射性微粒子ではあるが、福島第一原発事故以外で放出された核燃料断片由来の放射性微粒子と比べて放射能が低く、粒子に含まれる放射性物質の種類が異なる。このため、不溶性セシウム粒子が環境リスクとして考慮すべきか否かの判断には不溶性セシウム粒子を用いる独自の科学的検証が必要である。また、不溶性セシウム粒子は粒径や放射能によって2あるいは3種類に区分されており、このような特徴の違いによる生物影響に着目した知見も必要である。さらに、放射性粒子による局所被ばくが、従来得られてきたような可溶性の放射性セシウムが全身に広く分布する均等被ばく影響と等しいのか否かについて十分な知見は得られておらず（図I-2）、理解を深めることは重要である。このため、福島原発事故特有の不溶性セシウム粒子を用いて環境動態や健康影響に結びつく科学的知見を収集することは、環境保健行政での不溶性セシウム粒子に対する判断材料として重要な資料となる。



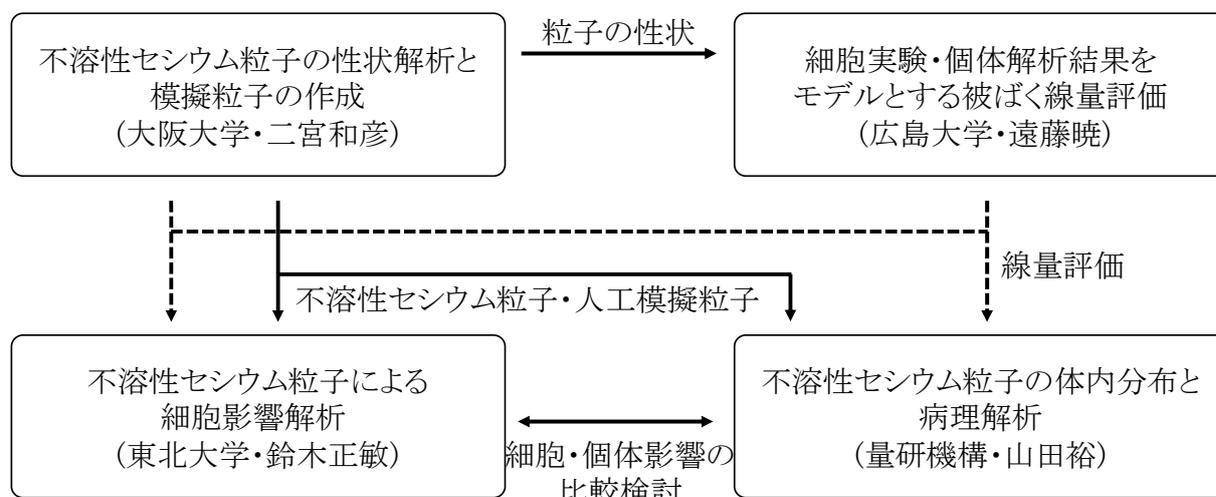
図I-2. 不溶性放射性粒子がマクロファージに貪食されたときの線量分布の不均一性

本課題では、不溶性セシウム粒子による生物影響を明らかにすることを目的に環境試料からの不溶性セシウム粒子の分離、放射化学的手法に基づいて粒子の性状を解析するとともに生成過程の知見を人工模擬粒子の作成にフィードバックさせることで、実物に近い粒子を生物実験に提供する研究体制を構築している。土壌から回収する不溶性セシウム粒子や人工模擬粒子を細胞実験や動物実験に用いることで、不溶性セシウム粒子の分子レベルの影響から肺内分布、動態、および病理組織変化について検討する。また、放射線被ばくと生物影響を関連付けるためには被ばく線量評価が必須である。放射性微粒子は一般的に比放射能が非常に高いため、不溶性セシウム粒子の検討においてもホットパーティクルと同様に体内に取り込んだ場合の被ばくによって与える線量は空間的な分布をもつことが予想される。不溶性セシウム粒子に含まれる主な放射性核種は Cs-134、Cs-137 であるため、不溶性セシウム粒子近傍の細胞に与えられる線量は  $\beta$  線に起因する。ICRP が推奨する臓器・組織単位で平均化した線量は実際に体内に取り込んだ不溶性セシウム粒子が周囲に与える線量と異なる値になることが予想される。そこで、本研究では体内に取り込んだ不溶性セシウム粒子が周囲の細胞に与える線量分布について、PHITS モンテカルロコードを用いて計算する。

以上のように、本課題では粒子の性状と生物実験体系をシミュレーションで再現して推定される被ばく線量と生物影響との相関を調べるための分野横断かつフィールドワークとベンチワークを融合する学際共同研究を立ち上げ、不溶性セシウム粒子によるリスク推定に寄与する基礎的知見を収集することを目指す。特に、非放射性模擬粒子の影響と比較することで、不溶性セシウム粒子による影響の特異性についても明らかにする。

## II. 研究方法

本課題では不溶性セシウム粒子の生物影響の解明を目的として、各担当者が粒子の分離と性状解析、被ばく線量評価、細胞レベルと個体レベルの影響解析を担当し、得られた知見や試料を共有することによって課題全体の目的達成を目指す（図II-1）。



図II-1. 本課題の実施体制

### 1. 不溶性セシウム粒子の性状解析と模擬粒子の作成

本項目では以下の3つのテーマに基づいて、不溶性セシウム粒子の生成過程の検討と、生物影響を明らかにするための人工模擬粒子の生成実験を行う。

- (1) 環境試料からの不溶性セシウム粒子の探索
- (2) 不溶性セシウム粒子の微量元素分析
- (3) 不溶性セシウム粒子の人工模擬粒子生成

#### (1) 環境試料からの不溶性セシウム粒子の探索

不溶性セシウム粒子を土壌試料から分離するために、土壌試料を薄く分散させ、イメージングプレートを用いるオートラジオグラフィにより放射能を可視化した。得られた放射能の濃集点の土壌の小さなフラクションを分離し、同様の操作を繰り返すことによりスケールダウンを行い、粒子の単離を行った。また必要に応じて、放射性粒子を水中に分散させることで、大量に存在するマトリクス成分である土壌からの分離を行った。

得られた不溶性セシウム粒子については、カーボンテープ上に展開し、電子顕微鏡を用いてその性状観察を行った。またEDS分析により、主要元素の分析を行い、さらに放射性セシウムはゲルマニウム半導体検出器を用いて定量した。そして、放射性セシウムの同位体比（Cs-134 および Cs-137）から、粒子を放出した原子炉（～0.9：1号機、～1.0：2、3号機のどちらか）の特定をおこなった。これらの粒子がどの土壌から分離されたかの情報を収集保存することで、環境中の不溶性粒子の分布についても情報を得た。

#### (2) 不溶性セシウム粒子の微量元素分析

不溶性セシウム粒子の元素分析研究は多く行われているが、そのほとんどは電子顕微鏡や放射

光を用いた非破壊的な分析である。この分析法は、微小な空間での元素の濃集点を特定することは可能であるが、低い濃度で微量に含まれている元素の定量はできない。不溶性セシウム粒子は原子炉建屋内で生成したと考えられており、これらに含まれる微量元素、特に燃料に由来する微量放射性核種の定量は粒子の生成過程、具体的には放射性核種の揮発の様子を明らかにするうえで重要な意味がある。

本項目では、初年度に不溶性セシウム粒子中の微量な放射性核種（ストロンチウムおよびプルトニウム）の定量に成功した。両核種は、クロマトグラフィーの技術を用いて化学的に分離し、それぞれ  $\beta$  線測定、質量分析により定量した。これにより不溶性粒子中の微量放射性元素定量法の妥当性については示すことができた。今年度は、より多くの粒子の分析を行い、合計 6 個の粒子について分析を行い、それぞれについて定量値を得た。

### （3）不溶性セシウム粒子の模擬粒子生成

不溶性セシウム粒子による詳細な生物影響を検討するためには、大量の不溶性セシウム粒子を準備する必要がある。しかしながら環境試料から大量の粒子を分離することは現実的ではなく、また粒子自身の性質のばらつきからも環境試料を使つての評価は難しい。そこで本研究では、放射性セシウムを導入した人工模擬粒子の作成を行うことにした。本項目の初年度の成果として、シリカゲルに対して非放射性的のセシウムを吸着させることで、不溶性粒子と同じ  $\text{SiO}_2$  を主成分としてセシウムを含んだ非放射性的人工模擬粒子を製作することができた。同様の方法で非放射性的のセシウム試薬を Cs-137 に置き換えることで放射性的の人工模擬粒子の生成を行った。

## 2. 細胞実験・個体解析結果をモデルとする被ばく線量評価

PHITS コードを用いたモンテカルロシミュレーションによって、吸入摂取した不溶性セシウム粒子が肺胞内に沈着することを仮定した線量評価を行なうための計算を行なった。計算で使用した条件などについては、研究結果の項目で後述する。

## 3. 不溶性セシウム粒子による細胞影響解析

ヒトテロメア逆転写酵素（hTERT）遺伝子の導入で無限増殖能を獲得した不死化正常ヒト網膜色素細胞(RPE1-hTERT)を用いた。10 %ウシ胎児血清(FBS)を添加した DMEM あるいはライボビッツ培地で対数増殖期を維持するように継代操作を行った。不溶性セシウム粒子との共培養実験では、ガラスボトムディッシュ上に RPE1-hTERT 細胞が隙間なく接着する密度になるまで細胞を培養し、細胞層の直上に不溶性セシウム粒子を置いた。共培養中は生細胞イメージングシステム（BioZero、キーエンス）により作成した動画を用いて、粒子が細胞上を動かずに静置していることを確認した。X 線照射は 0.1 または 0.3 mm 銅フィルターを搭載した X 線発生装置 (M-150WE、ソフテックス) を用いて管電圧 150kVp、管電流 6 mA の条件で行った。Cs-137 暴露実験は、4 MBq の Cs-137 放射能標準溶液（日本アイソトープ協会）を用いて終濃度 10、100、1,000 Bq/ml となるように希釈した培地を RPE1-hTERT 細胞に処理した。非放射性的シリカ粒子への暴露には粒径 100 nm、1  $\mu\text{m}$ 、3  $\mu\text{m}$  の sicastar (micromod、50 mg/ml)を終濃度 10-50  $\mu\text{g/ml}$  になるように希釈した培地

を処理した。各種処理を行なった細胞に対して DNA 二重鎖切断の検出には蛍光免疫染色法を行なった。処理後の細胞を PBS で 1 回洗浄し、4%ホルムアルデヒド溶液を室温で 10 分間の処理を行い、細胞を固定した。固定後に PBS で 1 回洗浄した後に、0.5%トライトン X-100 溶液を氷上で 5 分間処理し、膜透過処理を行った。DNA 二重鎖切断の指標として用いた 53BP1 の検出では、1 次抗体にラビットポリクローナル抗 53BP1 抗体 (Novus Biologicals) を 37°C で 2 時間処理した後、2 次抗体に Alexa594 標識抗ラビット IgG 抗体 (Invitrogen) を 37°C で 1 時間処理した。4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) による対比染色を行った後、粒子近傍の細胞と粒子から 1 cm 離れた領域の細胞における 53BP1 のフォーカス形成を蛍光顕微鏡 (BioZero、キーエンス) で撮影した画像で評価した。ミトコンドリア由来 ROS は MitoSOXRed (ThermoFisher Scientific) を用いて常法により検出した。

#### 4. 不溶性セシウム粒子の体内分布と病理解析

##### (1) 肺の組織標本の免疫組織染色

不溶性セシウム粒子によるリスクを推定するための手段の一つとして、不溶性セシウム粒子の肺における分布、動態、線量評価、および病理組織変化について実験動物を用いて調べることが有効である。本項目では、人工的に作成された不溶性セシウム模擬粒子を実験動物の呼吸気道内に投与し、呼吸気道内での分布と動態を調べ、局所での内部被ばく線量を評価するためのデータ取得とともに、投与初期の生物影響を病理組織学的方法により解析することを目的とする。また非放射性模擬粒子投与と胸部外部照射の比較群を作成し、粒子の吸入摂取そのものによる影響、および放射線均等被ばくによる影響と比較することで、不溶性放射性セシウム粒子による影響の特異性を明らかにする検討を行なう。

令和 2 年度は、実験動物（ラット）に非放射性的の不溶性粒子を気管内投与し、肺の組織標本を作製して病理診断を行い、病変に関わる肺胞上皮細胞と肺胞マクロファージの免疫組織染色方法を検討した。

コロナ禍により、動物実験を行うことが出来ず、非放射性的の不溶性粒子(0, 2.5, 5.0, 10.0, 15.0 mg/kg 体重 (bw))を気管内投与した投与 7 日目の肺の組織標本の免疫組織染色方法を検討した。

実験動物を 4 %イソフルラン麻酔下において両腋窩動静脈切開により放血し、気管を露出してカニューレを挿入し、10 ml シリンジで 10 %ホルマリン固定液 2-3 ml を肺内に注入した。その後、開胸して気管および肺を採取し、10 %ホルマリン固定液に浸漬した。

一日後、50 %エタノール固定液に置換し、全肺葉（左葉、右前葉、右中葉、右後葉、中間葉）について、主要な気管支を含む面で切り出し、常法によりパラフィン包埋後、3-5 ミクロン厚で薄切し、組織切片標本を作製した。

各パラフィンブロック標本より ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色標本および免疫染色標本 (SFTPC、CD11b および CD68) を作製した (表II-1)。

表II-1 抗体と陽性細胞

抗体	細胞
SFTPC	II型肺胞上皮細胞で陽性
CD68	肺胞マクロファージで高発現 単球、血中好中球、および組 織マクロファージで陽性
CD11b	炎症性樹状細胞、単球、NK細 胞、顆粒球、好中球で陽性

免疫染色については、各抗原について条件検討を実施し、最適化されたプロトコールを以下に示す。

**【1 日目作業手順】**

1) 脱パラフィン

キシレン 1回目 10分  
 キシレン 2回目 10分  
 100%エタノール 3分  
 80%エタノール 3分  
 70%エタノール 3分  
 流水洗浄 15分

2) 抗原賦活（流水洗浄後）

蒸留水（DW）にて軽く洗浄 1回

0.01 M クエン酸緩衝液（pH6.0）に浸して、オートクレーブ 105°C 10分

（スライドが完全に浸かっている状態で）→自然に冷えるのを待つ

トリス緩衝液（TBS）にて洗浄 10分 1回

3)免疫染色（ポリマー法：酵素と二次抗体が標識されたポリマー試薬を使用）

3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/DW 5分室温《内因性ペルオキシターゼの阻止》

TBS 洗浄 10分+5分+5分

《ブロッキング》20% 正常ヤギ血清 リン酸緩衝液(PBS) 20分室温

TBS にて軽く洗浄1回

一次抗体 (20% 正常ヤギ血清 + 0.1% Triton X-100/PBS)4°C 一昼夜

・ウサギ抗 SFTPC 抗体 (GTX54694、1.82 mg/mL) 希釈倍率:X 1200

- ・ウサギ抗 CD11b 抗体(NB 110-89474、 1 mg/mL) 希釈率:X 1200
- ・ウサギ抗 CD68 抗体 (bs-0649、 1 mg/mL) 希釈倍率:X 400
- ・正常ウサギ IgG 抗体(PM035、 MBL、 5 mg/mL) 希釈倍率:X 2000 陰性コントロール用

【2 日目作業手順】

TBS 洗浄 10 分+5 分+5 分

ポリマー試薬 30 分室温

(MACH4 Universal HRP-Polymer Detection System, BIOCARE MEDICAL,B RR4012H)

TBS 洗浄 10 分+5 分+5 分

ジアミノベンジジン (DAB) 発色 : いずれも 3 分

DAB 試薬 (DAB 四塩酸塩 10 mg+30 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 μL) / (0.05 M Tris-HCL 緩衝液(pH7.6) 50 mL)

流水洗浄5 分

DW にて軽く 洗浄 1回

核染色 ; ヘマトキシリン染色(3 倍希釈、10 秒)

流水洗浄10 分

70~100 % エタノール系列にて脱水

キシレン透徹

カバーガラスをかけて封入

顕微鏡下で肺の組織像を観察し、各染色群で比較した。

(倫理面への配慮)

不溶性セシウム粒子の性状解析と模擬粒子の作成の項目では、福島県内において不溶性セシウム粒子を分離するための土壌採取を行った。フィールド実験実施に当たっては、地権者、地元自治体との連絡を密に取り、試料採取の許可を得た上で実施した。

動物実験については、量子科学技術研究開発機構内の「動物実験委員会」において実験内容の妥当性が審議され、理事長の承認を受けた上で遂行されている。

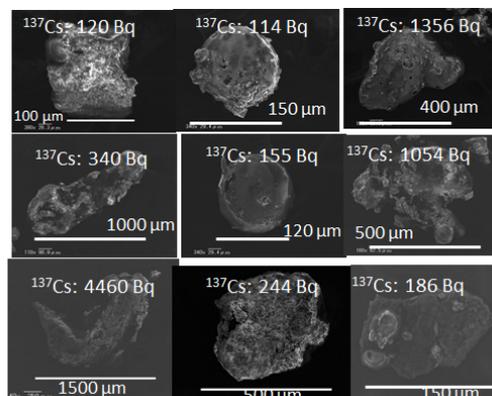
### III. 研究結果

#### 1. 不溶性セシウム粒子の性状解析と模擬粒子の作成

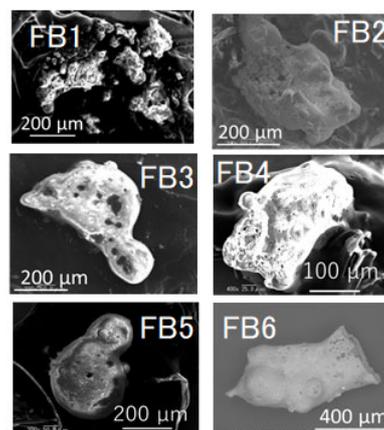
本研究では、20 程度の不溶性粒子を福島県双葉町で採取した土壌試料から分離した（図III-1）。分離した不溶性粒子について、電子顕微鏡による観察、X線による元素分析、Ge 検出器による  $\gamma$  線測定を行った結果、今回見つけた粒子の大きさは 120～1,500  $\mu\text{m}$  程度の大きさがあり、全て  $\text{SiO}_2$  を主成分としていることがわかった。Cs-134/Cs-137 は、事故時換算で 0.92 であった。放射能分析の結果、得られた不溶性粒子に含まれる Cs-137 は、100～4,500 Bq であった。

これらのうち、今年度は3つの粒子に対して、ストロンチウムとプルトニウムの分析を実施した。Sr-90 に関しては、 $\beta$  線測定の結果 0.2～1.3 Bq であり、Sr-90/Cs-137 は  $10^{-4}$  のオーダーであることが明らかとなった（図III-2、表III-1）。さらに Pu-239+240 の分析では、化学分離後の質量分析測定により、全て  $10^{-5}$  Bq オーダーの放射能しか含まれていないことが明らかとなった。このような微量なプルトニウムの分析は、本研究グループの一連の研究により初めて明らかとなったものである。Cs-137 に対する放射能比は、 $10^{-8}$  オーダーであることが分かった。

不溶性粒子の模擬試料を生成するために、100 kBq オーダーの Cs-137 を使い、直径数  $\mu\text{m}$  のシリカゲル粒子に対する吸着実験を実施した。シリカゲル粒子に、Cs-137 が吸着していることを示唆する結果が得られた。



図III-1. 本研究課題で分離した不溶性粒子の一部の電子顕微鏡像と Cs-137 放射能



図III-2. 化学分析を行った不溶性粒子の電子顕微鏡像

表Ⅲ-1 不溶性粒子の放射能の分析結果。FB1-3 は昨年度報告済み<sup>4)</sup>である

粒子ID	<sup>137</sup> Cs activity (Bq)	<sup>90</sup> Sr activity (Bq)	<sup>239+240</sup> Pu activity (Bq)
FB1	214	0.17±0.01	(1.7±0.2) x 10 <sup>-5</sup>
FB2	794	0.59±0.03	(3.5±0.5) x 10 <sup>-5</sup>
FB3	679	-	(7.1±0.6) x 10 <sup>-5</sup>
FB4	225	-	(4.1±0.4) x 10 <sup>-5</sup>
FB5	1010	1.32±0.03	(3.3±0.5) x 10 <sup>-5</sup>
FB6	625	0.83±0.07	(6.0±0.9) x 10 <sup>-5</sup>

## 2. 細胞実験・個体解析結果をモデルとする被ばく線量評価

### 2-1 被ばく線量計算モデル

放射性核種を体内に取り込む経路は経口摂取と吸入摂取の2種類が考えられる。放射性微粒子が不溶性であることから、経口摂取によって取り込んだ放射性微粒子は食道を通り、速やかに体外に排泄されると考えられる。従って、本研究では吸入摂取によって体内に取り込んだ放射性微粒子を取り扱う。不溶性セシウム粒子はタイプ A(直径 1-10 μm)とタイプ B(直径 70-400 μm)が存在する。一般に、鼻呼吸で 1-5 μm の粒子を吸入するとおよそ半分が気管気管支領域に沈着し、残りの半分は肺泡領域に到達するとされている<sup>5)</sup>。また、ICRP が提唱する呼吸軌道モデルにおいても、タイプ A のような粒径の小さい粒子は吸入すると肺泡まで到達する可能性があることが示唆されている<sup>6)</sup>。気管支領域に沈着した不溶性粒子は線毛細胞による線毛運動により咽頭まで運ばれるか、咳反射によって取り除かれる。一方、肺泡に沈着した不溶性粒子は主に肺泡マクロファージによって取り除かれるが、一般に粘膜線毛輸送で排出される気道に沈着した粒子より保持期間が長い<sup>5)</sup>。Bailey(1982)らが直径 1.2 μm と 3.9 μm の粒子を <sup>85</sup>Sr または <sup>88</sup>Y でラベルし、7 名のボランティアに吸入させて不溶性粒子のクリアランスについての実験を行っている<sup>5)</sup>。その結果、1.2 μm の粒子は約 8%、3.9 μm の粒子は約 40%が 6 日以内に初期沈着場所からの移動が確認されたが、肺から除去される半減期はどちらの粒子も約 600 日といった結果を報告している<sup>5)</sup>。従って肺泡まで到達した放射性微粒子は気管気管支領域に沈着した放射性微粒子と比較して長期にわたって肺の内部に留まり、内部被ばくをもたらす。そこで肺泡に沈着した不溶性セシウム粒子が周囲に与える線量を計算する。

生物体が放射線によって受ける影響はどの組織が照射されたかで異なる。一般的に細胞分裂が盛んな造血組織、上皮細胞、生殖腺、皮膚などは放射線感受性が高く、筋組織、神経組織、脂肪組織などは細胞分裂が停止しているために放射線感受性が低いとされる<sup>7)</sup>。組織ごとに放射線に対する応答が異なるため、線量は組織毎に計算する必要がある。本研究では最も肺泡の表層側に存在する組織である呼吸上皮細胞の線量を計算する。

生体組織の大きさは個人差があり、肺泡については形も様々である。一般的に肺泡は直径 100-300 μm 程度とされるため、本研究では直径 200 μm の球と仮定し、その表層部分に厚さ 0.1 μm

の上皮細胞が存在するとした<sup>7)</sup>。不溶性セシウム粒子は直径 1  $\mu\text{m}$  の球とし、 $\text{SiO}_2$  とした。計算を行った核種は Sr-90、Cs-134 及び Cs-137 の 3 つであり、それらからの  $\gamma$  線、及び  $\beta$  線について実施した。 $\beta$  線スペクトルは平成 31 年度の報告と同じ、フェルミ関数で与えた。Cs-134 及び Cs-137 が放出する  $\gamma$  線は表III-2 に示したもののみを考慮し、線源に入力した。

また、細胞の組成は人体組織等価物質(O: 76.2 %, C: 11.1 %, H: 10.1 %, N: 2.6 %)、密度は 1  $\text{g}/\text{cm}^3$  とした。線量の計算モデルは以下に示す 3 種類を設定した。

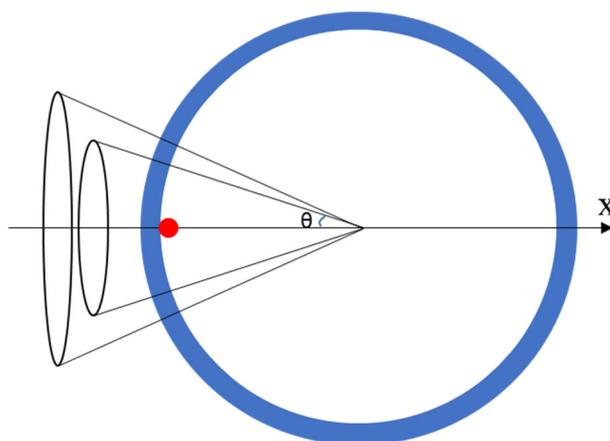
表III-2 線量の計算に考慮した  $\gamma$  線

核種	エネルギー (MeV)	放出率
$^{134}\text{Cs}$	0.5632	0.083
	0.5693	0.153
	0.6047	0.976
	0.7958	0.855
	0.8019	0.086
$^{137}\text{Cs}$	0.66165	0.851

a) 1 肺胞モデル

不溶性セシウム粒子が沈着した肺胞の上皮細胞の線量を計算するためのモデルである。図III-3 に計算体系の二次元での概略図を示す。

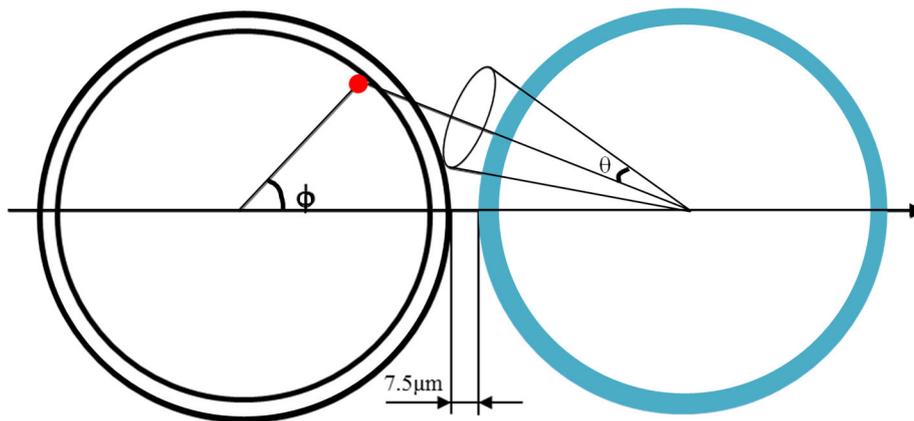
図III-3 中の青色で示されているのが上皮細胞、赤丸で示したのが不溶性セシウム粒子を示す。不溶性セシウム粒子の大きさは肺胞と比較して非常に小さく、同一肺胞の呼吸上皮細胞においてもその位置に応じて不溶性セシウム粒子との立体角が大きく異なるため、線量には分布が生まれることが予想される。そこで、図III-3 中に示したように x 軸からの角度  $\theta$  を  $1^\circ$  ステップで変化させた円錐を用いて、上皮細胞を 180 個の円環に切り分けた。線量の計算は切り分けた呼吸上皮細胞毎に行った。



図III-3. 1 肺胞モデル概略図

## b) 2 肺胞モデル

肺胞はヒトにおいては 3-5 億個存在し、不溶性セシウム粒子が沈着した肺胞の周囲には無数の肺胞が存在する。そのため、肺胞に沈着した不溶性セシウム粒子が周囲の呼吸上皮細胞に与える線量の分布を知るためには、放射性微粒子が沈着した肺胞のみではなく、その周囲に与える線量も計算する必要がある。このモデルは不溶性セシウム粒子が沈着した肺胞の隣に存在する肺胞の呼吸上皮細胞の線量を計算するモデルである。2 肺胞モデルの二次元での概略図を図III-4 に示す。線量を計算する呼吸上皮細胞は図III-3 と同様に青色で示した。1 肺胞モデルと同様に 180 個の円環に切り分け、それぞれの線量を計算した。肺胞間の距離は  $7.5\mu\text{m}$  とした。これは毛細血管の厚みを参考にした値である。不溶性セシウム粒子が図III-4 中左側の肺胞のどこに沈着したかに依存して線量の計算結果は変化する。従って、不溶性セシウム粒子の沈着場所を図III-4 中の角度  $\phi$  を  $0^\circ$ - $180^\circ$  の範囲で  $30^\circ$  ステップで二次元的に変化させ、6 通り計算を行った。位置関係を二次元的に考えているが、三次元に拡張した場合にも、 $x$  軸上で回転させることによって図III-4 と同じ位置関係となる。

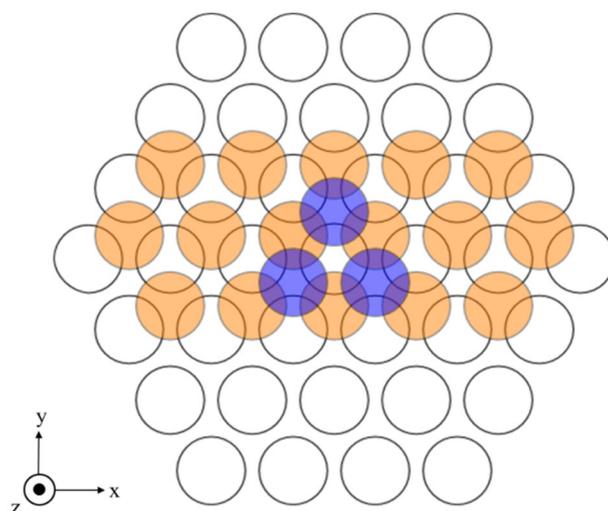


図III-4. 2 肺胞モデル概略図

## c) 多肺胞モデル

さらに遠くに位置する呼吸上皮細胞の線量を計算するには、より多くの肺胞細胞を考慮する必要がある。ここでは、肺胞が六方細密で整列していると仮定した。図III-5 に六方細密で整列させた肺胞の概略図を示す。

同じ色で示した肺胞は同じ  $xy$  平面上に配置されることを意味する。一番下の層に位置する肺胞を白、その上の層に位置する肺胞はオレンジ、さらにその上の層に位置する肺胞は青で着色した。視認しやすいよう、2 層目と 3 層目の肺胞は一部のみ示してある。なお、4 層目の肺胞の  $x$  座標及び  $y$  座標は 1 層目と一致する。また、肺胞の間は全て細胞で満たされているとした。本来、六方細密構造は平面上では球の中心が正三角形となるように接して配置し、その正三角形の重心と同じ  $x$  座標及び  $y$  座標を持つ球を 3 つの球と接するように配置していく構造であり、その 4 つの球が基本単位となる。しかし、今回は肺胞を接触させず、毛細血管の厚みを考慮した  $7.5\mu\text{m}$  だけ間



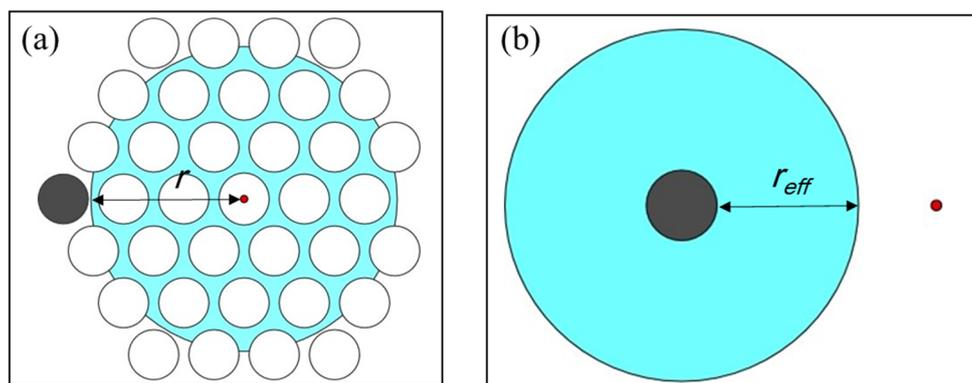
図III-5. 六方細密での肺胞の配置

隔をあけて配置した。何層にもわたって実際に肺胞を配置することは非常に手間がかかる。ある程度不溶性セシウム粒子から離れた呼吸上皮細胞の線量は、 $\beta$  線及び  $\gamma$  線の他の細胞による減衰を考慮することで求めることとした。そのため、不溶性セシウム粒子から発生した放射線が線量を計算する呼吸上皮細胞に到達するまでに通過する細胞の厚み(細胞の実効厚)を推定し、実効厚を用いて六方細密構造を単純化した。その詳細を以下に述べる。

線量を計算する呼吸上皮細胞の周りに球殻の形で細胞を配置して六方細密構造を単純化して計算モデルとした。単純化する前と後の計算モデルの例を図III-6 に示す。図III-6 中に灰色で示したのが線量を計算する呼吸上皮細胞、赤色で示したのが不溶性セシウム粒子、水色で示したのが細胞である。図III-6 (b)における細胞の実効厚  $r_{eff}$  は、図III-6 (a)の  $r$  を半径とする球中の細胞の体積と等しい体積となる肺胞の周りを覆った球殻の厚みになるよう決定した。この半径  $r$  の球の内側で定義される空間を便宜上、ここでは体積近似空間と呼ぶ。細胞の実効厚  $r_{eff}$  を決定するためには体積近似空間中の細胞の体積の値が必要となるが、幾何学的に求めることはできない。そこで PHITS の体積自動計算機能を用いて計算することとした。これは PHITS 上で定義した任意のセルの体積をモンテカルロ積分によって計算する機能である。この機能を利用するためには PHITS 上で実際に肺胞を定義しなければならないため、大きさが小さい体積近似空間中の細胞の充填率を計算し、細胞の体積はこの充填率を利用して計算することとした。肺胞の配置は六方細密構造を参考に行っているため、同じ配列の繰り返しで構成される。従って、細胞の充填率は体積近似領域の大きさに依存しないと考えられる。ある一定の値で細胞の充填率を定義することができれば任意の体積近似領域中の細胞の体積  $v$  を計算することができる。細胞の充填率  $P$  は次式により計算される。

$$P = \frac{v}{\frac{4}{3}\pi r^3}$$

1



図III-6．多肺胞モデル概略図 (a)簡単化前、(b)簡単化後

200-600  $\mu\text{m}$  の範囲で  $r$  を 0.01 ステップで変化させ、5 通りの大きさの体積近似領域について充填率を計算した。計算結果を表III-3 にまとめる。

表III-3 半径  $r$  の球における充填率

$r(\mu\text{m})$	$P$
200	0.34
300	0.34
400	0.33
500	0.34
600	0.33

表III-3 の計算結果より細胞の充填率  $P$  は 0.34 でほぼ一定となることが確認されたため、あらゆる  $r$  に対して  $P$  を 0.34 で一定とした。細胞の実効厚  $r_{eff}$  はその定義から次式で決定される。

$$r_{eff}^3 = P \cdot r^3 + 0.01^3 \quad 2$$

$\gamma$  線による線量は不溶性セシウム粒子から 5 cm 離れた肺胞の呼吸上皮細胞まで計算を行った。 $\beta$  線の飛程はその最大エネルギーに依存し、(Sr-90)-(Y-90)、Cs-134 及び Cs-137 の水中での最大飛程はそれぞれ約 1.1 cm、0.2 cm、0.5 cm となる。従って、 $\beta$  線による線量の計算は核種毎にそれぞれ 1.2 cm、0.3 cm、0.5 cm までとした。1 肺胞モデル及び 2 肺胞モデルでは同一肺胞における呼吸上皮細胞の線量分布を計算したが、多肺胞モデルでは付与される線量は呼吸上皮細胞全体での平均線量とした。また不溶性セシウム粒子は肺胞の中心に配置した。これらの妥当性は 2 肺胞モデルの結果の章で述べる。

## 2-2 内部被ばく線量

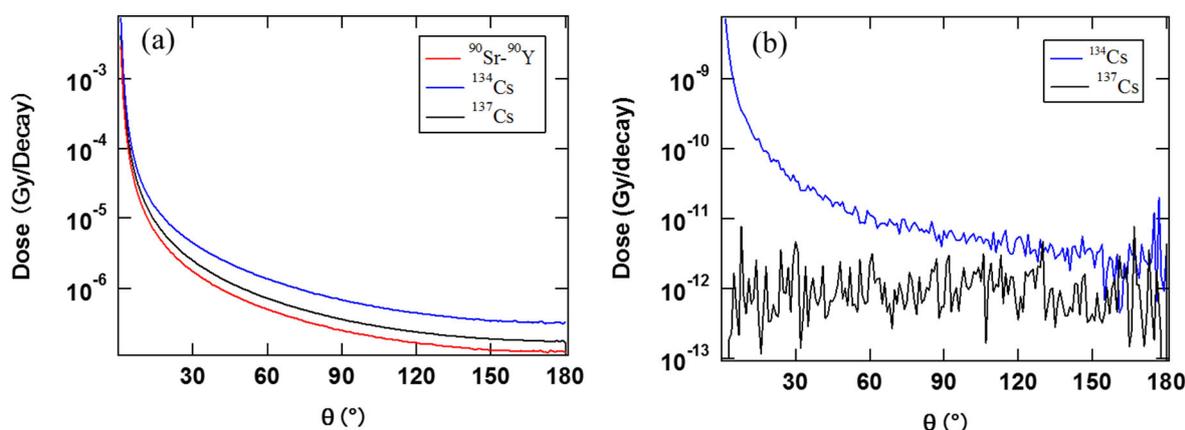
PHITS 計算ではそれぞれの核種からの  $\beta$  線及び  $\gamma$  線 1 粒子当たりで規格化された結果が得られる。考慮した Cs-134 の  $\gamma$  線の放出率から、本研究における PHITS 計算で模擬した Cs-134 が放出する  $\gamma$  線は 1 崩壊につき 2.153 本、Cs-137 は 1 崩壊につき 0.851 本である。後に比較しやすいよう、これらの値を PHITS 計算の結果得られた線量分布に乗じることで、それぞれの核種 1 崩壊当たりの線量分布に規格化した。

## a) 1 肺胞モデル

得られた  $\beta$  線及び  $\gamma$  線についての核種毎の線量分布を図III-7 に示す。

不溶性セシウム粒子が沈着した近傍においては  $\beta$  線によって付与される線量は  $\gamma$  線と比較して  $10^6$  倍ほど高く、 $\beta$  線が吸収線量を決定することが確認できる。また、不溶性セシウム粒子が沈着した周辺では 1 崩壊当たり  $10^{-3}$  Gy 以上の非常に高い線量となる。これは不溶性セシウム粒子にそれぞれの核種が 1 Bq 含まれていた場合には、3.6 Gy/h の線量率となることを意味する。ただし、不溶性セシウム粒子が沈着した場所と最も遠い反対側の呼吸上皮細胞の線量はその 1 万分の 1 となる。1 つの肺胞の呼吸上皮細胞中であっても場所に依存して線量は最大 4 桁異なるため、不溶性セシウム粒子から極めて近い場所の線量を取り扱う際には注意が必要である。

$\gamma$  線の付与する線量は低いが、線量の最大値と最小値の比は  $\beta$  線と同程度である。不溶性セシウム粒子が与える線量に空間依存性が表れる原因は放射線の減衰または減弱と線源からの立体角の 2 つが考えられる。 $\gamma$  線と  $\beta$  線は透過力が大きく異なるため、放射線の減衰または減弱が原因で同じ形の分布が得られることはない。不溶性セシウム粒子は等方線源であるため、放射性微粒子からの立体角が大きい細胞であれば、放射線がその細胞に入射する確率は高くなる。逆に、立体角が小さい細胞に放射線が入射する確率は小さい。この事象は放射線の種類に無関係である。 $\beta$  線と  $\gamma$  線で似た形の線量分布が得られたことから 1 肺胞モデルにおける線量分布は不溶性セシウム粒子に対する細胞の立体角の違いによるものと推察される。



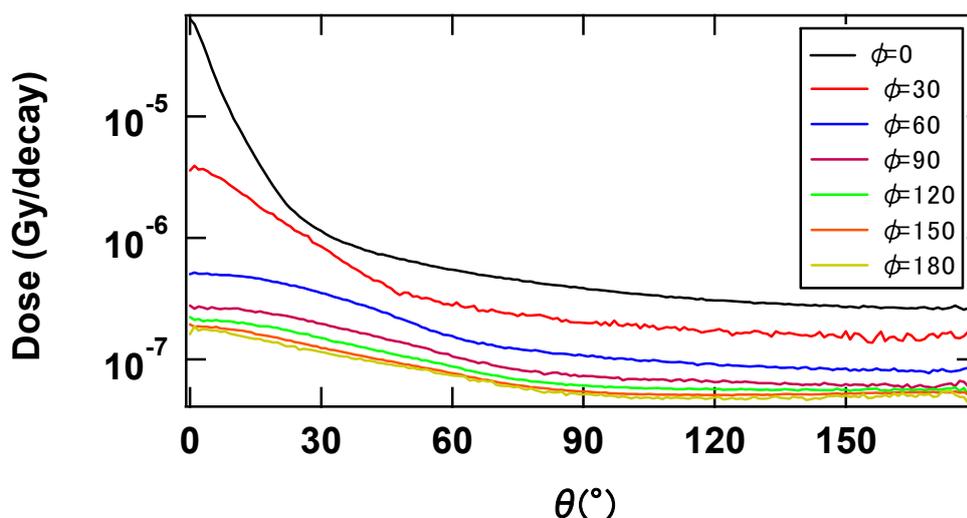
図III-7. 1 肺胞モデルにおける線量分布 (a) $\beta$  線による付与線量 (b) $\gamma$  線による付与線量

## b) 2 肺胞モデル

得られた線量分布を図III-8 に示す。

図III-8 は放射性微粒子の沈着場所に応じた Cs-137 の  $\beta$  線による線量分布の変化をまとめた図である。より近くに不溶性セシウム粒子が沈着した場合には、呼吸上皮細胞全体にわたって高い線量となり、遠くなるに従って、線量は減少していく。また線量の分布についても同様、より近くに不溶性セシウム粒子が沈着した場合には勾配の強い分布となり、遠くなるにしたがってその分布は緩やかになる。

隣の肺胞よりもさらに遠い肺胞に放射性微粒子が沈着した場合の線量分布は  $\phi=180$  の場合の線量分布より緩やかな分布になる。 $\phi=180$  の場合の線量分布と  $\phi=150$  の場合の線量分布がほぼ同じであることから、多肺胞モデルにおいて不溶性セシウム粒子の沈着場所は線量の計算結果に無関係と考えられる。従って、多肺胞モデルにおける不溶性セシウム粒子は肺胞の中心に配置することとした。 $\phi=180$  の場合には最大線量は最小線量の 2 倍程度となり、呼吸上皮細胞における線量分布は 1 肺胞モデルと比較して非常に緩やかになる。従って、多肺胞モデルにおいて計算する線量は呼吸上皮細胞全体の平均線量とした。

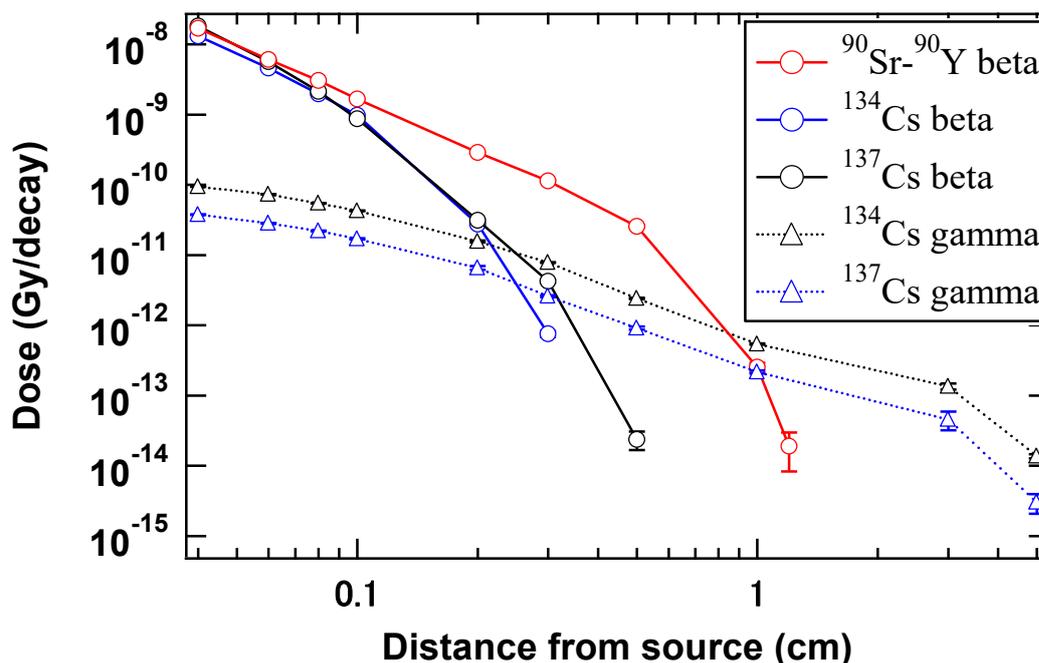


図III-8. 2 肺胞モデルにおける線量分布

## c) 多肺胞モデル

得られた線量と不溶性セシウム粒子と呼吸上皮細胞の距離の関係を図III-9 に示す。

ある程度離れた場所においても不溶性セシウム粒子が与える線量には空間分布が存在することが確認できる。特に、不溶性セシウム粒子付近の細胞には  $\beta$  線により高い線量が付与されるが、放射性微粒子から離れるにつれて  $\beta$  線の寄与は急激に低下する。Cs-134 及び Cs-137 が与える線量は不溶性セシウム粒子から数 mm までは  $\beta$  線による線量が支配的であり、それより離れると  $\gamma$  線による線量が支配的となる。Sr-90 は娘核種の Y-90 が最大エネルギー 2.2MeV の高いエネルギーの  $\beta$  線を放出するため、Cs-137 と比較してより遠くまで高い線量を与える。

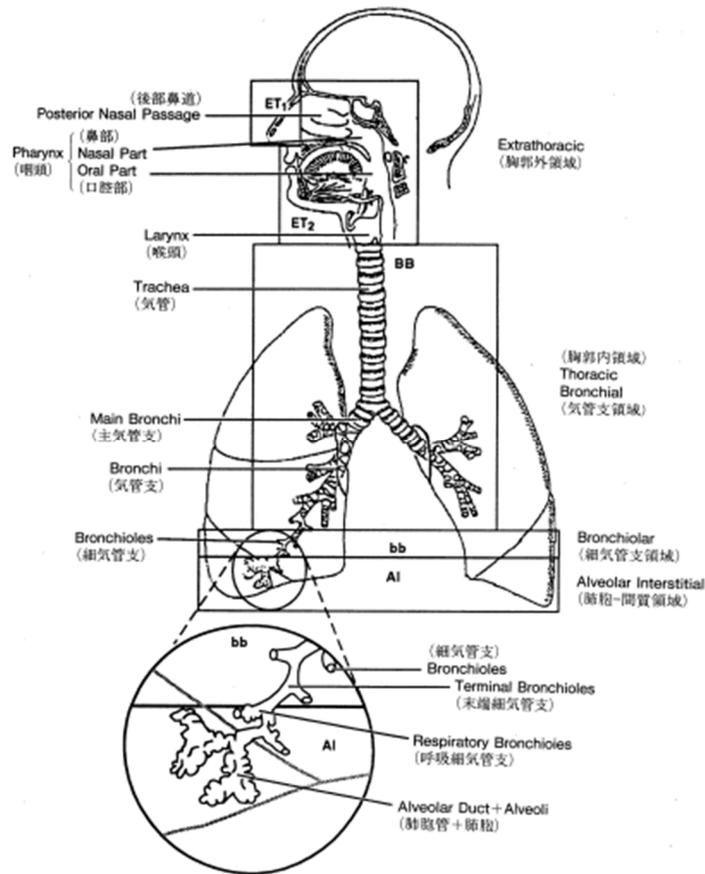


図III-9. 放射性微粒子からの距離による線量の変化

不溶性セシウム粒子に含まれる Sr-90 の放射能は Cs-137 の 0.0028 倍という結果が得られている。実際に体内に取り込んだ不溶性セシウム粒子が与える線量は放射能に比例することから、放射能比を考慮した Sr-90 による線量は Cs-137 の 0.0028 倍となり、 $\gamma$  線とほぼ等しい線量となる。従って、 $\beta$  線が高い線量をもたらす領域は不溶性セシウム粒子の周囲数 mm 程度であると考えられる。なお、Cs-134 及び Cs-137 の  $\gamma$  線の平均エネルギーがほぼ等しい(Cs-137:0.662 MeV、Cs-134:0.684 MeV)ため、PHITS 計算で得られた線量分布はほぼ等しい。1 崩壊当たりの線量に換算するため、それぞれの放出率を乗じ線量分布を導出した。得られた線量分布を図III-9 に示す。

#### 2-1-4 ICRP モデルとの比較

内部被ばく線量の算出には ICRP が勧告する預託実効線量係数が広く用いられる。しかし、得られる線量は組織単位での平均化線量であるため、実際に不溶性セシウム粒子が与える線量とは大きく異なることは既に述べた。ここでは ICRP が推奨する組織単位での平均化線量と実際の線量の差異がどの程度であるかを明確にするため、ICRP モデルを用いて肺胞に沈着した不溶性セシウム粒子が与える線量を計算し、本研究で得られた線量分布と比較する。吸入または経口摂取した 1 Bq の放射性核種がその後のある期間にわたって臓器に与える預託等価線量が ICRP レポート 72 にまとめられている<sup>9)</sup>。本研究で取り扱った 3 つの核種(Sr-90、Cs-134、Cs-137)について、直径 1  $\mu\text{m}$  のこれらの粒子を 1 Bq 吸引した場合の肺の預託等価線量を調べた。この預託等価線量は体内に取り込んだ放射性核種の体内挙動に基づいて導かれている。呼吸軌道の体内動態モデルの概要を以下に述べる。呼吸気道は 5 つの領域によって表される。図III-10 に呼吸気道モデルの概要を示す。ICRP は AI 領域、bb 領域及び BB 領域を肺として扱っている<sup>6)</sup>。



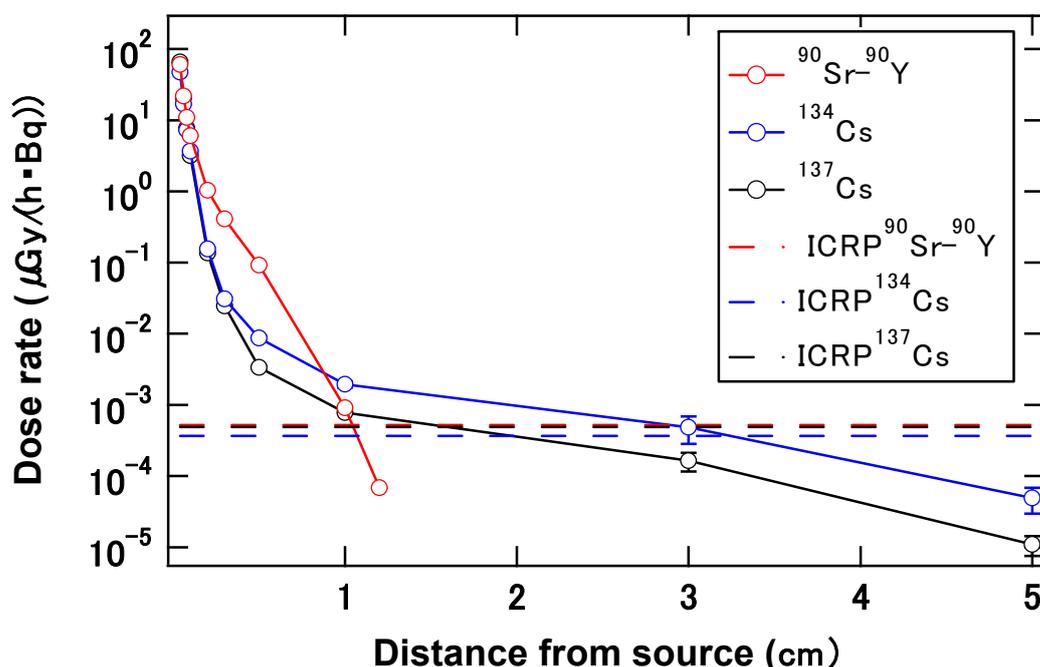
図III-10. ICRP 呼吸気道モデル<sup>6)</sup>

吸引したエアロゾルの各領域における沈着割合は、粒子径により決定される。その後の呼吸気道からのクリアランスとして胃腸管及びリンパ節への粒子輸送と血液への吸収を想定している。クリアランスの速度は吸引したエアロゾルの化学形態に依存する。ICRP はクリアランスの速度を3種類想定し、それぞれのクリアランスの速度毎に預託線量を計算している<sup>6)</sup>。3種類のクリアランス速度は近似的半減期で表すと以下ようになる。

- ・タイプ F : 10分 (100%)
- ・タイプ M : 10分 (10%) ; 140日(90%)
- ・タイプ S : 10分 (0.1%) ; 7000日(99.9%)

預託線量ではクリアランスにより放射性核種が移動していることを考慮しているため、比較ができない。そこで、記載されていたクリアランスタイプ S の場合の1日間の預託線量を1時間当たりの線量率に換算した。タイプ S のクリアランスの場合、1日経過しても放射性核種はほとんど

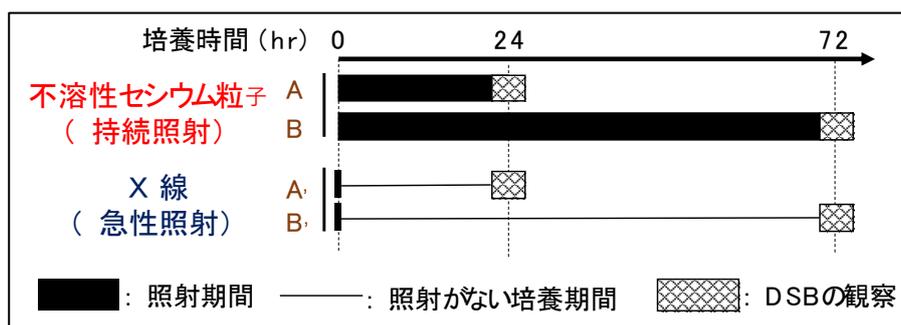
どクリアランスされない。そのため、線量率に換算する際、クリアランスは無視した。ただし、得られた線量率は 1 Bq の放射性核種を吸入した場合の値となる。本研究において計算されたのは 1 Bq の放射性核種が肺胞に存在した場合の線量分布のため、ICRP の線量率を肺に 1 Bq 存在した場合の値に補正する必要がある。本研究において肺胞に沈着した不溶性セシウム粒子の大きさは直径 1  $\mu\text{m}$  と仮定した。直径 1  $\mu\text{m}$  の粒子を吸入した場合、肺の沈着割合は 13.5%とされているため<sup>6)</sup>、この沈着割合で線量率を除することで、肺に 1 Bq 存在した場合の線量率に規格化した。比較を行った図を図III-11 に示す。



図III-11. 多肺胞モデルと ICRP モデルの比較

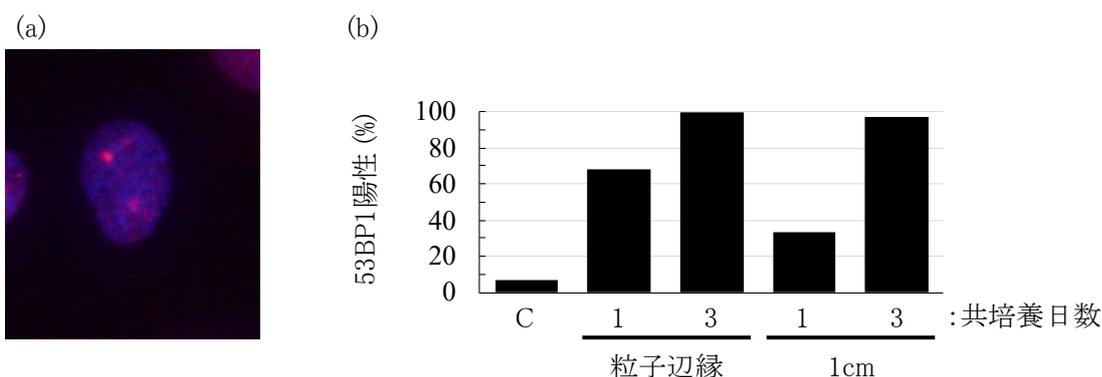
### 3. 不溶性セシウム粒子による細胞影響解析

土壌から分離した不溶性セシウム粒子を用いた平成 31 年度の結果より、1 粒子あたりの放射能が 100 Bq 以上になると粒子の周辺にある細胞で DNA 二重鎖切断が生じることを示した。DNA 二重鎖切断は高い細胞致死性を有する損傷である。組織反応が線量に応じて重篤度を増すときに細胞死の増加が関連すると考えられていることから、不溶性セシウム粒子による持続的・局所的な被ばくとこれまでに知見が蓄積している短時間・均等照射による DNA 二重鎖切断の誘発状況を比較した(図III-12)。DNA 二重鎖切断が生じると 53BP1 タンパク質が DNA 二重鎖切断周辺部位に集積する特徴を利用し、53BP1 を特異的に認識する抗体を用いた蛍光免疫染色法を行なうと 53BP1 の凝集斑（フォーカス）として検出されることが知られている。このような手法を利用すると個々の細胞で DNA 二重鎖切断を定量することができるため、不溶性セシウム粒子のように局所被ばくによる DNA 二重鎖切断の時空間的な誘発について解析することが可能となる。実験



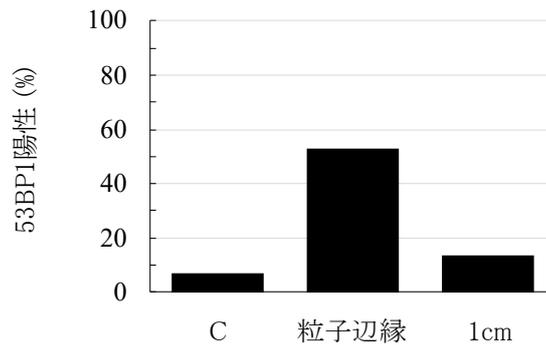
図III-12. 不溶性セシウム共培養と X 線急照射実験の概要  
DSB: DNA 二重鎖切断

日に補正した Cs-137 が 1,677 Bq のタイプ B に分類される土壌から分離した不溶性セシウム粒子 (PB-1) を RPE1-hTERT 細胞と 1 日および 3 日共培養した後に、粒子辺縁領域と粒子から 1 cm 離れた場所に位置する細胞で DNA 二重鎖切断の指標となる 53BP1 フォーカスに陽性を示す細胞の割合を調べた(図III-13)。未処理時に 1 割弱程度が 53BP1 フォーカスに陽性を示す細胞上に PB-1 をのせて共培養すると、1 日後には粒子辺縁領域にある 69 % の細胞で 53BP1 フォーカスが形成され、共培養を 3 日間継続すると同じ領域のすべての細胞でフォーカスの形成が確認された(図III-13)。粒子から 1 cm 離れた領域にある細胞では、共培養開始から 1 日後に約 34 %、3 日後に 97 % の細胞で 53BP1 のフォーカス形成が確認された。次に、90 Bq の Cs-137 を有する土壌から分離した不溶性セシウム粒子(PB-2)を細胞と 1 日共培養したときの DNA 二重鎖切断の誘発について検討した(図III-14)。粒子辺縁領域では 53 %、粒子から 1 cm 離れた領域では 14 % の細胞が 53BP1 フォーカス陽性を示した。以上の結果より、100 Bq 以上の Cs-137 を有するタイプ B の不溶性セシウム粒子は少なくとも粒子から 1 cm 離れた領域にある細胞に対して DNA 二重鎖切断を誘発するが、誘発される細胞数は粒子に含まれる Cs-137 放射エネルギーや共培養する時間とともに増加し、線源粒子から離れると誘発率が低下することが明らかとなった。



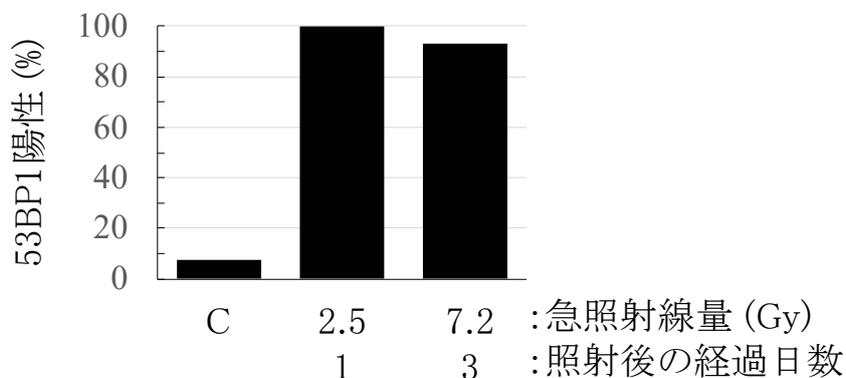
図III-13. 不溶性セシウム粒子 PB-1 共培養による 53BP1 フォーカスの形成

(a) 53BP1 フォーカス (赤) の検出例。細胞核は青の領域。(b) 不溶性セシウム粒子 PB-1 との共培養による 53BP1 フォーカスの誘発。粒子辺縁と 1cm では、共培養時間 1 日と 3 日の結果はそれぞれ左右の棒グラフで示されている。C は非照射時の結果を示す。

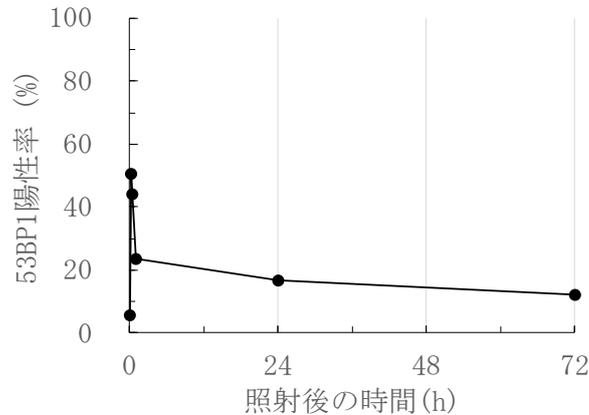


図III-14. 不溶性セシウム粒子 PB-2 と 1 日共培養による 53BP1 フォーカスの形成  
C は非照射時の結果を示す。

不溶性セシウム粒子の持続的な被ばくによる DNA 二重鎖切断の誘発状況を、X 線発生装置による急性均等被ばくによる誘発状況と比較・検討した(図III-12、III-15)。不溶性セシウム粒子周辺細胞に付与される線量評価は、分担研究者の遠藤が本課題の平成 31 年度研究報告書に記載した方法を用いた。その結果、PB-1 辺縁の線量は共培養 1 日、3 日の条件でそれぞれ 2.5 Gy、7.2 Gy となった。本年度実施した急照射実験では、それぞれの線量を照射した後に、該当する線量に達するまで不溶性セシウム粒子を共培養した時間と同じ日数が経過した時点で 53BP1 の検出を行なった。急照射実験では照射 30 分後に最も多く観察されるフォーカス数が照射 12-24 時間にいたるまでの時間帯で急激に減少し、24 時間以降になるとフォーカスの減少速度が緩やかになることが報告されている。本年度実施した急照射実験では、両方の線量でほぼすべての細胞が照射 24 時間後に 53BP1 フォーカスを形成しており、7.2 Gy 照射群で照射後 72 時間が経過すると陽性細胞が 93% となり、照射 24 時間後から陽性細胞の割合が若干減少した。急照射 3 日後の 53BP1 フォーカス陽性細胞の割合が、不溶性セシウム粒子と 3 日間共培養したときの陽性率と類似していたが、その時間帯に至るまでの陽性率の変動は異なっていた。不溶性セシウム粒子と共培養すると時間経過とともに陽性率が増加したことに對し、急照射では直後にほぼすべての細胞が陽性細胞となった後、照射 24 時間以降にフォーカスを完全に消失する細胞が若干ながら 1 割弱ほど観察された。



図III-15. 短時間均等照射による 53BP1 フォーカス陽性細胞  
C は非照射時の結果を示す。



図III-16. 4.3 mGy の短時間均等照射後の 53BP1 フォーカス陽性細胞の時間変化

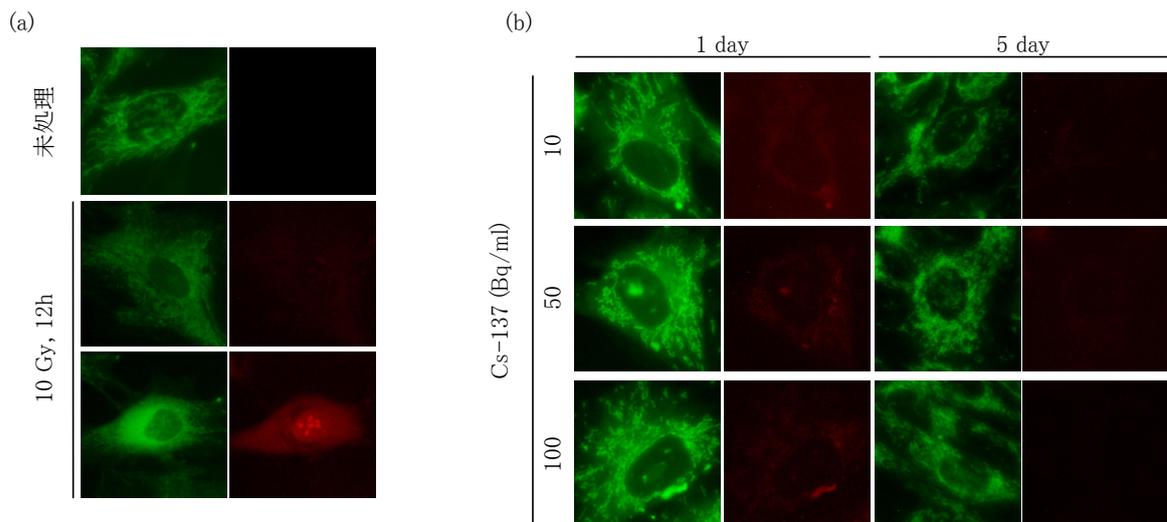
次に、不溶性セシウム粒子 PB-1 から 1 cm 離れた領域における線量を急照射したときの 53BP1 陽性率の変動に関する検討を計画した。PB-1 から 1 cm 離れた場所の線量評価は、共培養 1 日および 3 日間でそれぞれ 0.05 mGy および 0.14 mGy であった。今回使用した X 線発生装置で照射可能な最低線量は 4.3 mGy であり、その線量の急照射 1 日後と 3 日後の 53BP1 フォーカス陽性細胞について定量した(図III-16)。照射後 15-30 分で 40-50 %の細胞に細胞あたり 4 個以内の 53BP1 フォーカスが形成され、照射 1 時間後には 53BP1 陽性率が 20%に減少した。照射 1 日後、3 日後の陽性率は 16%、10%と緩やかに減少していき、照射 3 日後の陽性細胞の 9 割以上が細胞あたり 1 個の 53BP1 フォーカスが検出された。一方、PB-1 と共培養して 1 cm 離れた部位の領域では急照射に使用した 4.3 mGy よりもはるかに低い線量が付与されていたにもかかわらず、53BP1 陽性率は 34%、97%といずれの共培養日数でも高く、時間経過とともに増えていった。

本課題では 9 Bq、90 Bq、1,677 Bq の Cs-137 が含まれる不溶性セシウム粒子を用いて検討を行なってきた。そこで類似の放射エネルギーを均等に暴露させた細胞における 53BP1 フォーカスの誘発について検討した。このため、培地中の濃度が 10 Bq/ml、100 Bq/ml、1,000 Bq/ml となるように Cs-137 を加えて、細胞に 24 時間処理したときの 53BP1 フォーカス形成能を調べた。その結果、いずれの濃度で処理を行っても 53BP1 フォーカス陽性率や細胞あたりのフォーカス数は未処理細胞と同等であった。分担研究者の遠藤によって培地に Cs-137 が均等に分布するときの細胞の線量を評価した結果を表III-4 まとめた。1,000 Bq/ml の均等被ばくで 0.09 mGy と評価されたことから、今回得られた結果は従来報告されてきた短時間均等照射実験による 53BP1 フォーカス誘発能の知見と矛盾はない。しかしながら、1,000 Bq/ml で 24 時間処理による線量は PB-1 から 1 cm 離れた距離で 1 日間粒子と共培養したときよりも 1.8 倍高い線量となるが、不溶性セシウム粒子と共培養した局所被ばくで圧倒的に 53BP1 の誘発能が高い。この結果は、局所被ばくと均等被ばくでは DNA 二重鎖切断の誘導メカニズムが異なることを示唆している。

表III-4. Cs-137 含有培地を 1 日処理された細胞の被ばく線量評価

培地中の Cs-137濃度 (Bq/ml)	線量 (mGy)		
	$\beta$ 線	$\gamma$ 線	$\beta + \gamma$ 線
10	$8.81 \times 10^{-4}$	$6.45 \times 10^{-5}$	$9.46 \times 10^{-4}$
100	$8.81 \times 10^{-3}$	$6.45 \times 10^{-4}$	$9.46 \times 10^{-3}$
1,000	$8.81 \times 10^{-2}$	$6.45 \times 10^{-2}$	$9.46 \times 10^{-2}$

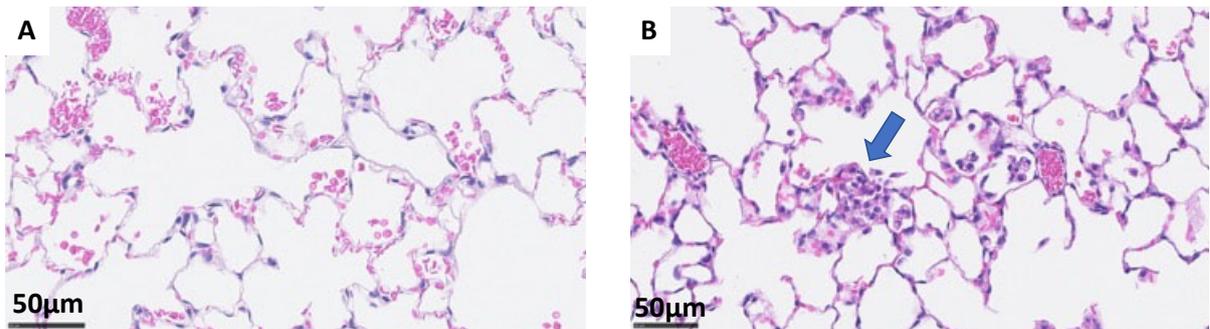
次に、DNA 二重鎖切断を誘発しない Cs-137 処理による酸化ストレスの誘発の有無について検討を行なった。低線量率放射線被ばくによってミトコンドリアに由来する活性酸素種が生じることによって細胞応答反応が活性化することが知られている。このため、100 Bq/ml までの濃度で Cs-137 を処理した細胞でミトコンドリアの形態とミトコンドリア由来の活性酸素種の検出を行なった(図III-17)。陽性コントロールとして、RPE1-hTERT 細胞に 10 Gy を照射して 12 時間後には細胞質でミトコンドリアの断片化が観察され、活性酸素種が誘発される状況が確認された。一方、10、50、100 Bq/ml の濃度で Cs-137 含有培地を 1 日あるいは 5 日処理を行なったところ、ミトコンドリア形態に関しては 5 日で断片化様の変化が見られたが、軽度な変化にとどまっていた。ミトコンドリア由来活性酸素種については 1 日処理で若干誘発される状況が確認されたが、5 日後には未処理時と同じレベルに戻っていた。このため、不溶性セシウム粒子と同等の放射能を持つ Cs-137 均等被ばくではミトコンドリア由来の活性酸素種や DNA 二重鎖切断の誘発が見られなかった一方で、不溶性セシウム粒子による DNA 二重鎖切断能は短時間照射や均等照射とは異なる時空間的变化が見られたことから、放射能が低いタイプ A に分類される不溶性セシウム粒子による酸化ストレスの影響について、不溶性セシウム粒子を用いた検討が必要になることが示唆された。



図III-17. Cs-137 処理によるミトコンドリアに及ぼす影響解析  
 緑：ミトコンドリア形状、赤：ミトコンドリア由来活性酸素種  
 (a)未照射および陽性コントロール、(b)Cs-137 含有培地処理細胞の結果

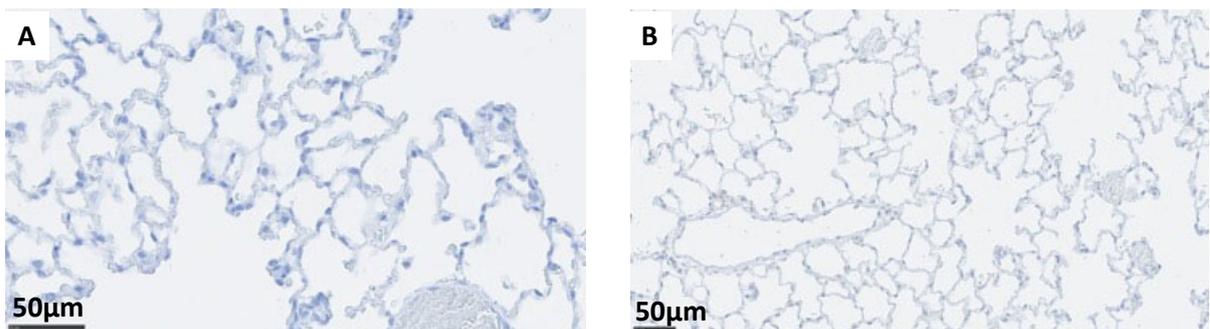
#### 4. 不溶性セシウム粒子の体内分布と病理解析

非放射性のシリカ粒子投与後 7 日目において、HE 染色による病理診断では、非投与コントロール群および低用量(2.5mg/kg bw)では組織反応が見られないが(図III-18A)、それ以上の投与群では、肺胞内のマクロファージの浸潤、増加が観察され、肺胞マクロファージの集簇が出現した(図III-18B、矢印)。

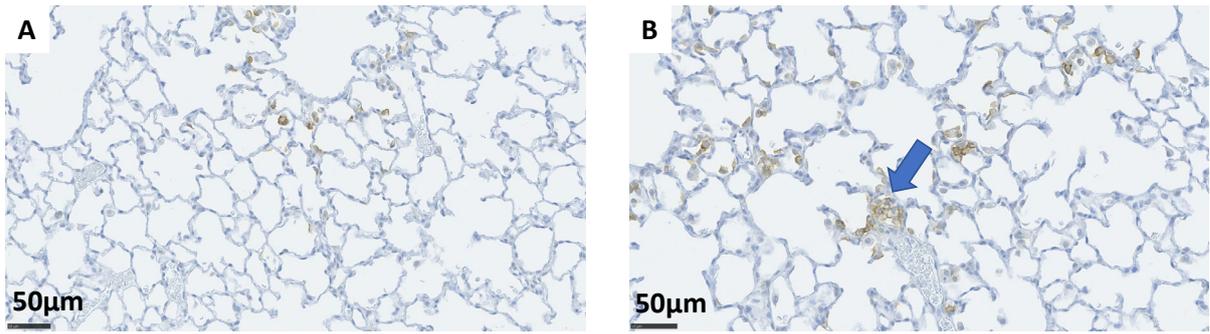


図III-18. 肺胞部位の組織像 (HE 染色、A:非投与コントロール、B: 15.0 mg/kg bw 投与)

炎症性マクロファージの免疫組織染色(図III-19A,B)では、非投与コントロール群では炎症性マクロファージがわずかに見られるだけだが(図III-19B)、粒子を投与(10.0mg/kg bw)すると炎症性マクロファージが滲出し(図III-20A)、高用量(15.0mg/kg bw)では、粒子を取り込んだ肺胞マクロファージの周囲に集簇を形成した(図III-20B、矢印)。一方、常在性マクロファージの免疫組織染色では、投与量に関わらずその数は一定であった(図省略)。

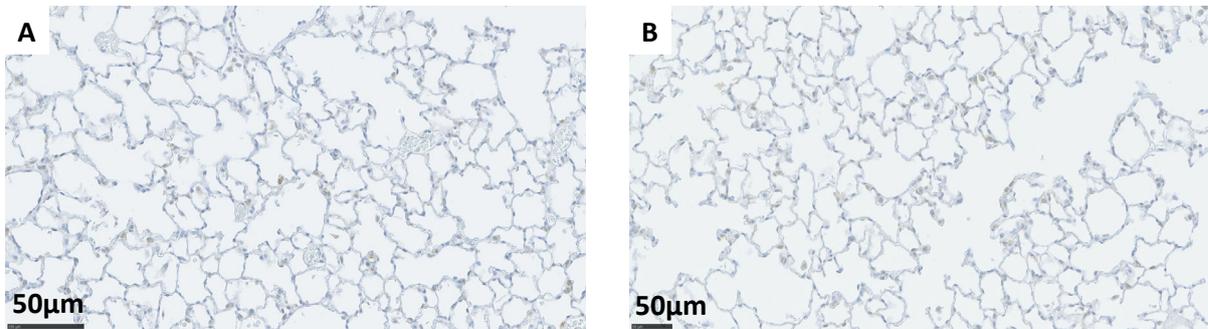


図III-19. 肺胞部位の組織像 (CD11b 染色、A:染色陰性コントロール、B: 非投与コントロール)



図III-20. 肺胞部位の組織像（CD11b染色、A: 10.0 mg/kg bw 投与、B: 15.0 mg/kg bw 投与）

肺腫瘍（腺腫、腺癌）の標的細胞である肺胞II型上皮細胞の数は、非投与コントロールでも投与群でも大きな違いは見られなかった（図III-21A,B）。



図III-21. 肺胞部位の組織像（SFTPC染色、A:非投与コントロール、B: 10.0 mg/kg bw 投与）

以上の所見を表III-5にまとめた。不溶性シリカ粒子は肺胞マクロファージに貪食され、集簇を形成することが、炎症性反応を調べる免疫染色により裏付けられた。

表III-5 不溶性粒子投与肺の組織変化まとめ

投与粒子量 (mg/kg bw)	肺胞 MΦ 集簇像	炎症性 MΦ (CD 11b)	常在性 MΦ (CD 68)	肺胞II型細胞 (SFTPC)
0	—	+	+	+
2.5	—	+	+	+
5.0	+	++	+	+
10.0	+	++	+	+
15.0	++	+++	+	+

#### IV. 考察

粒子の分離実験により、土壤試料中には多くの不溶性セシウム粒子が比較的安定に存在していることが分かった。粒子の土壤中での濃度を出すためには、土壤の採取面積当たりの粒子数を導出する必要があり、より多くの粒子の分析が必要となる。本研究で見つけた不溶性セシウム粒子は、その大きさ、形状、放射能、セシウム同位体の放射能比から、すべてタイプ B と呼ばれるものであると考えられる<sup>10)</sup>。このように不溶性セシウム粒子には、地域によって粒子のタイプに明確な特徴があることが分かった。得られた粒子はすべて数 100  $\mu\text{m}$  の大きさを持ち、100 Bq 以上の大きな放射能を持っていた。主成分についても、既報のタイプ B 粒子の特徴をよく再現することが分かった。また、不溶性セシウム粒子に含まれるストロンチウムとプルトニウムの分析に成功し、セシウムに対してストロンチウムはかなり少なく、プルトニウムに至ってはさらに少ないことが分かった。セシウム、ストロンチウム、プルトニウムはそれぞれ揮発性の異なる元素であり、セシウムが最も揮発性が高く、プルトニウムはほとんど揮発しない。これらの元素の含有量にこれほど大きな差があるということは、仮に揮発過程により粒子にこれらの元素が取り込まれたと考えた場合、炉内温度はせいぜい 2,000 K 程度であると考えられる。これらの不溶性セシウム粒子に含まれるセシウム、ストロンチウム、プルトニウムの放射能の絶対値には大きな差があるが、比をとった場合粒子間での差は小さく、これらの不溶性セシウム粒子は、温度などが比較的似た条件、過程で生成したと考えられる。

被ばく線量評価では、肺胞上皮細胞における線量評価体系を確立した。計算された線量は  $\beta$  線と  $\gamma$  線の放出率を用いて、それぞれの核種 1 崩壊当たりの線量率とした。ICRP が勧告する線量を元に計算した線量率は肺全体で同じ値を適用するので細胞の位置に依存せず一定の値となるため、図III-11において直線で示した。本研究において、不溶性セシウム粒子の沈着場所周辺の線量率は非常に高くなるという結果が得られているが、ICRP モデルで線量率を評価した場合には線量は肺全体で平均化されるため、線量の値は過小評価となる。不溶性セシウム粒子近傍の高線量は  $\beta$  線に由来するものであるが、この  $\beta$  線が局所的に高い線量を与える効果を ICRP モデルでは考慮できないといえる。 $\gamma$  線を放出する Cs-134 及び Cs-137 は数 cm 以上不溶性セシウム粒子から離れると多肺胞モデルで計算された線量率が ICRP モデルを下回る。さらに遠い場所では ICRP モデルは線量を過大評価する。 $\gamma$  線を放出せず、 $\beta$  線のみを放出する Sr-90 は不溶性セシウム粒子から 1cm 離れた時点で多肺胞モデルと ICRP モデルの線量率が逆転し、 $\beta$  線が届かない細胞の線量は制動放射線のみとなるため、非常に小さい。しかし、ICRP モデルでは全ての場所で同じ線量が付与されるものとして扱われる。どの核種においても、ICRP モデルによって算出される線量率は実際に不溶性セシウム粒子が与える線量率とは大きく異なることが確認された。ICRP モデルと多肺胞モデルでは得られる線量率に最大 5 桁、1 肺胞モデルとは最大 10 桁の差がある。これらの結果は、不溶性セシウム粒子による被ばくの特徴である空間分布を持った線量は、ICRP 計算モデルでは再現されず、局所的な生物応答を過小評価する可能性が示唆された。

細胞影響解析では、不溶性セシウム粒子による持続的かつ局所照射による細胞影響と急照射や均等照射による細胞影響の違いについて検討を行なった。100 Bq 以上の Cs-137 を有するタイプ B の不溶性セシウム粒子が周辺の細胞に対して高い細胞致死性を有する DNA 二重鎖切断を誘発するため、DNA 二重鎖切断を各種照射による影響を比較する指標として用いた。急照射では線量に

依存する数の DNA 二重鎖切断が一度に生じるために、DNA 二重鎖切断マーカーとして用いた 53BP1 フォーカスは照射 30 分後に最も多く検出されて、その後は DNA 二重鎖切断が修復されるために時間経過とともにフォーカス数は減少していく。本課題で実施した検討においても、細胞実験系に適した線量評価体系によって評価された不溶性セシウム粒子と同等の線量を急照射した結果においても同様のフォーカス陽性細胞の変動が確認された。一方で、不溶性セシウム粒子によって生じる DNA 二重鎖切断は共培養時間とともに増加することを確認している。誘発された DNA 二重鎖切断は修復されていくことが急照射の実験結果より示されていることから、不溶性セシウム粒子の共培養期間中には DNA 二重鎖切断の誘発と修復が同時に進行していると考えられる。このため、不溶性セシウム粒子の共培養時間とともに 53BP1 フォーカスが増加する理由として、(1) DNA 二重鎖切断修復能を上回る頻度で不溶性セシウム粒子による DNA 二重鎖切断が生じている、(2) 不溶性セシウム粒子によって誘発される DNA 二重鎖切断には修復できないあるいは修復に時間がかかるものが含まれる、ことが理由として考えられた。ただ、不溶性セシウム粒子から 1 cm 離れて線量が 1 mGy 以下と評価された領域においても急照射、均等照射に比べて多い DNA 二重鎖切断が検出されたことから、局所被ばくでは均等被ばくとは異なるメカニズムが DNA 二重鎖切断の誘発に関与する可能性が考えられる。このメカニズムとしてバイスタンダー効果が考えられる。低線量率被ばく時のように被ばく細胞と被ばくをしてしない細胞が混在する環境において、被ばくをしていない細胞の一部で被ばく細胞と同じように DNA 二重鎖切断が生じることが報告されている。被ばく細胞と非被ばく細胞間の情報伝達を介して、非被ばく細胞に DNA 二重鎖切断が誘発されるメカニズムが考えられており、このような非被ばく細胞で被ばく細胞様の事象が誘発されることをバイスタンダー効果と呼ばれている。不溶性セシウム粒子から 1 cm 離れた場所に相当する線量の 1.8 倍高い線量で急性均等照射を行なうと、約半数の細胞でのみ 53BP1 フォーカスが検出されたことから、不溶性セシウム粒子による照射でも DNA 二重鎖切断を誘発された細胞とその損傷を有しない細胞が混在する環境が予想されるために、バイスタンダー効果が関与する可能性がある。また、バイスタンダー効果のメカニズムとして分泌因子を介する経路が考えられている。放射線に被ばくした細胞から分泌因子の放出が促進されていること、また、不溶性セシウム粒子辺縁には高い線量で照射された細胞領域があるので、高線量照射細胞から放出される分泌因子を受け取ることによって粒子から離れた領域でも均等照射より多くの DNA 二重鎖切断が検出された可能性がある。いずれのメカニズムにおいても、不溶性セシウム粒子による局所被ばくと均等照射による細胞影響は異なることから、不溶性セシウム粒子を使用した局所被ばくの基礎的な知見を収集していくことが重要である。

粒子状物質を吸入摂取したときの影響を実験動物により調べる方法として、気管内投与は有効な方法の一つである<sup>11)</sup>。シリカ粒子の投与量が 100 mg/kg bw 程度であれば、投与後 3 日でも、肺全体に粒子を貪食した肺胞マクロファージや白血球の出現、肺胞上皮の増生などが HE 染色標本でも観察可能である<sup>12)</sup>。しかしながら、今回は最大投与量でも 15 mg/kg bw であり、HE 染色で病理変化を明確に捉えることが難しかったが、炎症性マクロファージに対する免疫染色により炎症反応とその分布を見ることが出来ることが分かった。このことは、不溶性粒子投与初期において、HE 染色での病理変化が明らかでなくても、炎症性マクロファージの免疫染色は炎症反応を捉えられる鋭敏なマーカーの一つとなることを示している。また粒子が高用量であれば、炎症性マ

クロファージの集簇像が観察され、これも炎症反応マーカーとして利用できることがわかった。一方、肺胞上皮細胞のうち、発がん（腺腫瘍）の標的細胞であるⅡ型肺胞上皮細胞についても免疫染色することができ、不溶性粒子投与の初期においては特に変化を現さないことがわかった。今回の研究結果の意義は、低用量の不溶性粒子の肺胞内取り込みでも炎症反応が生ずることを明らかにし、また、肺胞内に取り込まれた粒子と、それを取り込んだマクロファージ、及び標的細胞の分布と位置関係がわかり、細胞レベルでの線量評価をする上での基本的なパラメータが得られたことである。今後、実際に放射性物質を含む不溶性粒子を投与し、肺中の放射線量を経時的に測定し、その活性のリテンションを求めることにより、最終的に内部被ばく線量を算出することに結び付けられる。不溶性セシウム粒子の生物影響については、粒子そのものの影響とそこから放出される放射線による影響の複合影響になる。粒子そのものによる炎症反応が、放射線による急性の炎症反応や、晩発の発がん過程にどのように影響を及ぼすのかは不明である。これまでの研究で、甲状腺がんなど腫瘍組織中に腫瘍に付随したマクロファージ(Tumor associated macrophage)が混在していることがわかっており、それらが腫瘍の形成・進展に促進的に関与（腫瘍形成性の支持：pro-tumorigenic)していることが示されている<sup>13)</sup>。今後、標的細胞レベルでの内部被ばく線量評価の推定を行い、同程度の線量の外部被ばくによる影響を比較することにより、不溶性粒子投与による炎症反応と、放射線そのものの影響に対する修飾効果を明らかにすることが出来るだろう。

## V. 結論

環境中の不溶性セシウム粒子の一部で、放射性セシウム以外の放射性元素としてストロンチウム、プルトニウムが含まれており、Cs-137 に対してそれぞれ  $10^{-4}$ 、 $10^{-8}$  オーダーと含有量が少ないことを明らかにした。Cs-137 に対する比がほとんど一定であることから、粒子の生成過程が比較的均一な環境で起こっていたことを示唆している。

複数の肺胞モデルを作成して肺胞上皮細胞における不溶性セシウム粒子の被ばく線量を評価する体制を確立した。肺全体を平均化する被ばく線量評価では、粒子周辺の  $\beta$  線が寄与する範囲は過小評価となり、 $\beta$  線がとどかない範囲でも大きく異なることを確認した。不溶性セシウム粒子による被ばくの特徴である空間分布を持った線量は、ICRP 計算モデルでは再現されず、局所的な生物応答を過小評価する可能性が示唆された。

細胞生物学的評価でも、不溶性セシウム粒子による持続的局所被ばくによる影響が、これまでにデータが収集されている急性均等照射と異なることを示唆した。不溶性セシウム粒子では暴露時間とともに DNA 二重鎖切断数が増加すること、同一の線量でも均等被ばくで得られた結果よりも多くの DNA 二重鎖切断が誘発され、特に  $\beta$  線が届かない低線量領域でその影響が顕著に出ることが明らかになった。このため、均等照射で得られた結果から不溶性セシウム粒子の影響を推定することは難しく、粒子を用いる基礎的な知見を収集することが重要であることを示唆した。

動物実験では、低用量の不溶性粒子の気管内投与により炎症性マクロファージの肺胞内の滲出が生じ、反応が濃度依存性に起きることが免疫染色により明らかになった。一方、発がん（腺腫瘍）の標的細胞であるⅡ型肺胞上皮細胞についても免疫染色することができ、不溶性粒子投与の初

期においては特に変化を現さないことがわかった。

## VI. 次年度以降の計画

これまで分析した不溶性粒子中のストロンチウム、プルトニウムについてさらに検体数を増やし、粒子の生成プロセスが比較的似ていると考えられる現在の仮説の検証を行う。また不溶性粒子の模擬粒子の生成を進め、放射性セシウムを含んだ粒子の提供から生物影響実験を展開する。細胞影響では、DNA 二重鎖切断を生じないタイプ A に相当する Cs-137 を有する粒子によって酸化ストレス状態の誘発について検討するとともに、肺胞内で上皮細胞とともに被ばく影響を受ける標的であるマクロファージへの影響を解析する。動物実験では、放射性模擬粒子を投与し、その分布・動態と経時的な変化を調べる。評価委員会からのコメントをうけて、肺腫瘍の発がん性試験に用いられるモデル動物として A/J マウスを導入し、放射性セシウム不溶性粒子投与による肺の病理変化を調べて晩発影響に関する知見を得る。以上のような粒子の性状や生物学的情報を、これまでに確立してきた線量評価体系に組み込み、被ばく線量と生物影響の相関についても引き続き情報を収集する。

## この研究に関する現在までの研究状況、業績

### ア) 論文・雑誌等

- 1) Martin PG, Jones CP, Bartlett S, Ignatyev K, Megson-Smith D, Satou Y, Cipiccia S, Batey DJ, Rau C, Sueki K, Ishii T, Igarashi J, Ninomiya K, Shinohara A, Rust A, Scott TB. Structural and compositional characteristics of Fukushima release particulate material from Units 1 and 3 elucidates release mechanisms, accident chronology and future decommissioning strategy, Scientific Reports 2020; 10: 22056.
- 2) Igarashi J, Zheng J, Zhang Z, Ninomiya K, Satou Y, Fukuda M, Ni Y, Aono T, Sueki K, Shinohara A. Identification of Sr and Pu in different type of insoluble particles released by the accident of Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant, KEK-Proceedings: Proceedings of the 21th Workshop on environmental Radioactivity 2020; 2020-4: 24-29.
- 3) Kajiwara T, Ninomiya K, Shinohara A, Yamaguchi Y. Distribution of  $^{90}\text{Sr}$  near the FDNPP released from the accident of FDNPP, KEK-Proceedings: Proceedings of the 21th Workshop on environmental Radioactivity 2020; 2020-4: 51-56.

### イ) 学会発表等

- 1) 五十嵐淳哉、鄭建、張子見、二宮和彦、佐藤志彦、福田美保、倪有意、青野辰雄、末木啓介、篠原厚、福島原発事故により放出された不溶性粒子のプルトニウム同位体比、日本放射化学会第 64 回討論会、大阪、2020 年 9 月
- 2) 梶原知啓、二宮和彦、篠原厚、山口喜朗、原発周辺土壌中における  $^{90}\text{Sr}$  と  $^{137}\text{Cs}$  の分布と

その比の方角依存、日本放射化学会第 64 回討論会、大阪、2020 年 9 月

- 3) 鈴木正敏、遠藤暁、松谷祐輝、岡壽崇、小野拓実、光安優典、木野康志、高橋温、篠田壽、漆原佑介、中島裕夫、二宮和彦、三浦富智、稲葉洋平、千田浩一、福本学、福島原発事故による動物・環境試料を用いた放射線被ばく影響解析、日本放射線影響学会第 63 回大会、福島、2020 年 10 月
- 4) 鈴木正敏、遠藤暁、松谷祐輝、二宮和彦、稲葉洋平、千田浩一、福本学、不溶性セシウム粒子による細胞影響解析、京都大学複合原子力科学研究所専門研究会、大阪、2020 年 12 月

ウ) 書籍・総説

なし

エ) 受賞

なし

オ) 特許

なし

カ) 環境行政への活用・貢献実績

なし

## 引用文献

- 1) Leggett RW, Williams LR, Melo DR, Lipsztein IL. A physiologically based biokinetic model for cesium in the human body, *Science of the Total Environment* 2003; 317: 235-255.
- 2) Adachi K, Kajino M, Zaizen Y, Igarashi Y. Emission of spherical cesium-bearing particles from an early stage of the Fukushima nuclear accident, *Scientific Reports* 2013; 3: 2554
- 3) Igarashi Y, Kogure T, Kurihara Y, Miura H, Okumura T, Satou Y, Takahashi N, Yamaguchi A. A review of Cs-bearing microparticles in the environment emitted by the Fukushima Dai-ichi Nuclear Power Plant accident. *Journal of Environmental Radioactivity* 2019; 205-206:101-18.
- 4) Igarashi J, Zheng J, Zhang Z, Ninomiya K, Satou Y, Fukuda M, Ni Y, Aono T, Shinohara A. First determination of Pu isotopes ( $^{239}\text{Pu}$ ,  $^{240}\text{Pu}$  and  $^{241}\text{Pu}$ ) in radioactive particles derived from Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant accident, *Scientific Reports* 2019; 9: 11807.
- 5) 第 5 回微小粒子状物質健康影響評価検討会 資料 1-3、  
[http://www.env.go.jp/air/info/mpmhea\\_kentou/05/](http://www.env.go.jp/air/info/mpmhea_kentou/05/)
- 6) ICRP, 1994. Dose Coefficients for Intakes of Radionuclides by Workers. ICRP Publication 68. Ann. ICRP 24 (4).
- 7) 山口彦之, 放射線生物学, 株式会社裳華房, 1995.

- 8) 高野幹久, 湯元良子. 肺胞上皮細胞におけるタンパク質・ペプチドの輸送とその制御. 膜. 2011; 36: 145-153.
- 9) ICRP, 1995. Age-dependent Doses to the Members of the Public from Intake of Radionuclides - Part 5 Compilation of Ingestion and Inhalation Coefficients. ICRP Publication 72. Ann. ICRP 26 (1).
- 10) Satou Y, Sueki K, Sasa K, Yoshikawa H, Nakama S, Minowa H, Abe Y, Nakai I, Ono T, Adachi K, Igarashi Y. Analysis of two forms of radioactive particles emitted during the early stages of the Fukushima Dai-ichi Nuclear Power Station accident, *Geochemical Journal* 2018; 52: 137-143.
- 11) Driscoll KE, Costa DL, Hatch G, Henderson R, Oberdorster G, Salem H, Schlesinger RB. Intratracheal instillation as an exposure technique for the evaluation of respiratory tract toxicity: uses and limitations, *Toxicological Sciences* 2000; 55:24-35.
- 12) Chen Y, Chen J, Dong J, Jin Y. Comparing study of the effect of nanosized silicon dioxide and microsized silicon dioxide on fibrogenesis in rats, *Toxicology and Industrial Health* 2004; 20:21-7.
- 13) Ryder M, Gild M, Hohl TM, Pamer E, Knauf J, Ghossein R, Joyce JA, Fagin JA. Inhibits Tumor-Associated Macrophages and Impairs BRAF-Induced Thyroid Cancer Progression, *PLoS ONE* 2013; 8: e54302.

## Interdisciplinary joint research for elucidation of biological effects of radiocesium-bearing insoluble particle

Masatoshi Suzuki<sup>1</sup>, Kazuhiko Ninomiya<sup>2</sup>, Satoru Endo<sup>3</sup>, Yutaka Yamada<sup>4</sup>

*1 International Research Institute of Disaster Science, Tohoku University, Lecturer*

*2 Department of Chemistry, Graduate School of Science, Osaka University, Assistant Professor*

*3 Quantum Energy Applications, Graduate School of Advanced Science and Engineering, Hiroshima University, Professor*

*4 Department of Radioecology and Fukushima Project, Center for Advanced Radiation Emergency Medicine, National Institutes for Quantum and Radiological Sciences and Technology, Research Director*

**Key word:** radiocesium-bearing insoluble particle, the effect of local radiation exposure, physicochemical property analysis, Monte Carlo simulation, dose evaluation, pathological analysis

### Abstract

Radiocesium-bearing insoluble particles were released into the environment after the accident of Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant. Many points remain to be elucidated regarding the characteristics of the particles and the scientific evidences regarding biological effects are particularly insufficient. In this research project, we promote interdisciplinary joint research that crosses research fields and integrates fieldwork and benchwork, and accumulates the evidences of biological effects based on property analysis of the particle and dose evaluation, resulting in the contribution to risk estimation by radiocesium-bearing insoluble particle. Chemical analysis was performed using type B particle isolated from the soil, and <sup>90</sup>Sr and <sup>239+240</sup>Pu were detected in addition to radiocesium, but the radioactivity ratio with <sup>137</sup>Cs were 10<sup>-4</sup> and 10<sup>-8</sup>, respectively.

In order to evaluate radiation dose of lung by inhalation of radiocesium-bearing insoluble particle, the alveolar models were established. Comparing with the exposure dose averaged over the entire lung, the estimated dose of the area around the particle in which β-rays contributes was underestimated, and that of the area in which β-rays did not reach was also significantly different. Therefore, our simulation suggested that the dose estimation with the spatial distribution characteristic of exposure to insoluble particles may not be reproduced by the ICRP model and may underestimate the local biological response.

DNA double-strand break was induced by local irradiation of insoluble particle in which more than 100 Bq of Cs-137 was detected. The DNA lesion accumulated over the time of co-culture with the particle within 1 cm apart from the particle. The number of DNA double-strand breaks induced by the radiocesium-bearing insoluble particle was higher than that induced by the uniform irradiation with the equivalent dose to the particle, indicating that the additional mechanism may be involved in the induction of DNA double-strand breaks by the local irradiation of radiocesium-bearing insoluble particle.

Non-radioactive insoluble particles were administered to laboratory animals (rats) intratracheally. The histological tissue preparations of the lungs were made, and pathologically diagnosed. Immunohistochemical staining method of the alveolus epithelium cell and macrophage were examined, and it was shown that infiltration and aggregation of the inflammatory macrophages to the alveolus occurred in dose-dependent manner. On the other hand, the type II alveolus epithelium cell which was a target cell for tumor was found not to show a change in early phase. These results provide the information that is useful for microdosimetry and risk evaluation with the radiocesium-bearing insoluble particle.