

JAEA-Review 2019-024 DOI:10.11484/jaea-review-2019-024

ラドンを代表としたアルファ核種の吸入による 内部被ばくの横断的生体影響評価 (委託研究)

一平成 30 年度 英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業ー
 Interdisciplinary Evaluation of Biological Effect of Internal Exposure
 by Inhaling Alpha-ray Emitting Nuclides Represented by Radon

(Contract Research) -FY2018 Center of World Intelligence Project for Nuclear Science/Technology and Human Resource Development-

> 廃炉国際共同研究センター 岡山大学

Collaborative Laboratories for Advanced Decommissioning Science Okayama University

> 福島研究開発部門 福島研究開発拠点

Fukushima Research Institute Sector of Fukushima Research and Development

January 2020

Japan Atomic Energy Agency 日本原子力研究開発機構

本レポートは国立研究開発法人日本原子力研究開発機構が不定期に発行する成果報告書です。 本レポートの入手並びに著作権利用に関するお問い合わせは、下記あてにお問い合わせ下さい。 なお、本レポートの全文は日本原子力研究開発機構ホームページ(<u>https://www.jaea.go.jp</u>) より発信されています。

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構 研究連携成果展開部 研究成果管理課 〒319-1195 茨城県那珂郡東海村大字白方2番地4 電話 029-282-6387, Fax 029-282-5920, E-mail:ird-support@jaea.go.jp

This report is issued irregularly by Japan Atomic Energy Agency. Inquiries about availability and/or copyright of this report should be addressed to Institutional Repository Section,

Intellectual Resources Management and R&D Collaboration Department, Japan Atomic Energy Agency.

2-4 Shirakata, Tokai-mura, Naka-gun, Ibaraki-ken 319-1195 Japan Tel +81-29-282-6387, Fax +81-29-282-5920, E-mail:ird-support@jaea.go.jp

© Japan Atomic Energy Agency, 2020

ラドンを代表としたアルファ核種の吸入による内部被ばくの横断的生体影響評価(委託研究) - 平成 30 年度 英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業 –

日本原子力研究開発機構 福島研究開発部門 福島研究開発拠点

廃炉国際共同研究センター

岡山大学

(2019年11月13日受理)

日本原子力研究開発機構(JAEA)廃炉国際共同研究センター(CLADS)では、平成 30 年度 英 知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業(以下、「本事業」という)を実施している。本 事業は、東京電力ホールディングス株式会社福島第一原子力発電所の廃炉等を始めとした原子力 分野の課題解決に貢献するため、国内外の英知を結集し、様々な分野の知見や経験を、従前の機 関や分野の壁を越えて緊密に融合・連携させた基礎的・基盤的研究及び人材育成を推進すること を目的としている。平成 30 年度の新規採択課題から実施主体を文部科学省から JAEA に移行する ことで、JAEA とアカデミアとの連携を強化し、廃炉に資する中長期的な研究開発・人材育成を より安定的かつ継続的に実施する体制を構築した。

本研究は、研究課題のうち、平成 30 年度「ラドンを代表としたアルファ核種の吸入による内部 被ばくの横断的生体影響評価」について取りまとめたものである。

本研究は、体内で α 線を放出した際に周辺細胞に与える影響の推定、 α 線の被ばくによる個体 レベルでの生物学的応答の検討を既に先行研究の多い α 線放出核種のラドンを用いた影響評価に より、 α 核種の内部被ばくによる健康影響評価モデルの構築を行う。さらに、研究組織の分野横 断的な有機的連携を行うことで研究拠点形成を目指す。

本報告書は、日本原子力研究開発機構の英知事業における委託業務として、学校法人岡山大学が実施した成果に関するものである。

廃炉国際共同研究センター:〒979-1151 福島県双葉郡富岡町大字本岡字王塚 790-1

JAEA-Review 2019-024

Interdisciplinary Evaluation of Biological Effect of Internal Exposure by Inhaling Alpha-ray Emitting Nuclides Represented by Radon (Contract Research)

 – FY2018 Center of World Intelligence Project for Nuclear Science/Technology and Human Resource Development –

Collaborative Laboratories for Advanced Decommissioning Science

Okayama University

Fukushima Research Institute, Sector of Fukushima Research and Development Japan Atomic Energy Agency Tomioka-machi, Futaba-gun, Fukushima-ken

(Received November 13, 2019)

The Collaborative Laboratories for Advanced Decommissioning Science (CLADS), Japan Atomic Energy Agency (JAEA), had been conducting the Center of World Intelligence Project for Nuclear Science/Technology and Human Resource Development (hereafter referred to "the Project") in FY2018. The Project aims to contribute to solving problems in nuclear energy field represented by the decommissioning of the Fukushima Daiichi Nuclear Power Station, Tokyo Electric Power Company Holdings, Inc. For this purpose, intelligence was collected from all over the world, and basic research and human resource development were promoted by closely integrating/collaborating knowledge and experiences in various fields beyond the barrier of conventional organizations and research fields. The sponsor of the Project was moved from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology to JAEA since the newly adopted proposals in FY2018. On this occasion, JAEA constructed a new research system where JAEA-academia collaboration is reinforced and medium-to-long term research/development and human resource development contributing to the decommissioning are stably and consecutively implemented.

Among the adopted proposals in FY2018, this report summarizes the research results of the "Interdisciplinary Evaluation of Biological Effect of Internal Exposure by Inhaling Alpha-ray Emitting Nuclides Represented by Radon".

In the present study, the effect of alpha-ray emission in human body on the surrounding cells is estimated, and biological response to alpha-ray exposure is investigated at the whole organism level, by the evaluation method for radiation effects using radon that is an alpha-ray emitting nuclide, because there have been extensive studies on radon so far. From the obtained results, a model to evaluate the effect of internal exposure by alpha-ray emitting nuclides on health is constructed. Through these studies, we aim to form a research base by the interdisciplinary organic collaboration among research organizations.

Keywords: Alpha-ray Emitting Nuclide, Radon, Hydrogen Peroxide, Antioxidant Substances, Oxidative Stress, Microdosimetry, Metabolomics, Machine Learning

This work was performed by Okayama University under contract with Japan Atomic Energy Agency.

目次

1	英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業の概要	1
2	平成 30 年度採択課題	2
付約	禄 成果報告書	5

Contents

1.	Outline	e of Center of World Intelligence Project for Nuclear Science/Technology and Human Resourc	e
	Develo	pment	1
2.	Accept	ed Proposal in FY2018	2
Ap	pendix	Result Report	5

This is a blank page.

1. 英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業の概要

文部科学省では、「東京電力(株)福島第一原子力発電所の廃止措置等研究開発の加速プラン(平成 26 年 6 月文部科学省)」等を踏まえ、平成 27 年度から「英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業」(以下、「本事業」という。)を立ち上げ、「戦略的原子力共同研究プログラム」、「廃炉加速化研究プログラム」及び「廃止措置研究・人材育成等強化プログラム」を推進している。

具体的には、国内外の英知を結集し、国内の原子力分野のみならず様々な分野の知見や経験を、 機関や分野の壁を越え、国際共同研究も含めて緊密に融合・連携させることにより、原子力の課 題解決に資する基礎的・基盤的研究や産学が連携した人材育成の取組を推進している。

一方、日本原子力研究開発機構(以下、「JAEA」という。)では、平成27年に廃炉国際共同研 究センター(以下、「CLADS」という。)を組織し、「東京電力ホールディングス(株)福島第一 原子力発電所の廃止措置等に向けた中長期ロードマップ」等を踏まえ、東京電力ホールディング ス(株)福島第一原子力発電所廃炉(以下、「1F廃炉」という。)に係る研究開発を進めている。

また、平成 29 年 4 月に CLADS の中核拠点である「国際共同研究棟」の運用を開始したこと を踏まえ、今後は CLADS を中核に、廃炉の現場ニーズを踏まえた国内外の大学、研究機関等と の基礎的・基盤的な研究開発及び人材育成の取組を推進することにより、廃炉研究拠点の形成を 目指すことが期待されている。

このため、本事業では平成 30 年度の新規採択課題から実施主体を文部科学省から JAEA に移 行することで、JAEA とアカデミアとの連携を強化し、廃炉に資する中長期的な研究開発・人材 育成をより安定的かつ継続的に実施する体制を構築することとし、従来のプログラムを、①共通 基盤型原子力研究プログラム、②課題解決型廃炉研究プログラム、③国際協力型廃炉研究プログ ラム、④研究人材育成型廃炉研究プログラム(平成 31 年度より新設)に再編した。

2. 平成 30 年度採択課題

平成 30 年度は「共通基盤型原子力研究プログラム」、「課題解決型廃炉研究プログラム」、「国際協力型廃炉研究プログラム」において、研究課題の採択を決定した。公募の概要は以下のとおりである。

· 公募期間:平成 30 年 5 月 22 日 (火) ~6 月 22 日 (金)

平成 30 年 5 月 22 日 (火) ~7 月 12 日 (木) ※日英共同研究のみ

· 提案数:

共通基盤型原子力研究プログラム 49 課題(若手研究 14 課題、一般研究 35 課題)

課題解決型廃炉研究プログラム 28 課題

国際協力型廃炉研究プログラム 5課題

これらの提案について、外部有識者から構成される審査委員会において、書面審査及び面接審 査、日英共同研究については二国間の合同審査を実施し、採択候補課題を選定し、その後、PD(プ ログラムディレクター)・PO(プログラムオフィサー)会議での審議を経て、表 2-1 に掲げる 19 の採択課題を決定した。

表 2-1 平成 30 年度採択課題一覧(1/3)

共通基盤型原子力研究プログラム

【若手研究】

課題名	研究代表者	所属機関
被災地探査や原子力発電所建屋内情報収集のための 半自律ロボットを用いたセマンティックサーベイマ ップ生成システムの開発	河野 仁	東京工芸大学
汚染土壌の減容を目的とした重液分離による放射性 微粒子回収法の高度化	山﨑 信哉	筑波大学
ラドンを代表としたアルファ核種の吸入による内部 被ばくの横断的生体影響評価	片岡 隆浩	岡山大学
炉心溶融物の粘性及び表面張力同時測定技術の開発	大石 佑治	大阪大学
iPS 細胞由来組織細胞における放射線依存的突然変 異計測系の確立	島田 幹男	東京工業大学

課題名	研究代表者	所属機関	
レーザー共鳴イオン化を用いた同位体存在度の低い ストロンチウム 90 の迅速分析技術開発	岩田 圭弘	東京大学	

表 2-1 平成 30 年度採択課題一覧 (2/3)

【一般研究】

課題名	研究代表者	所属機関
放射性核種の長期安定化を指向した使用済みゼオラ イト焼結固化技術の開発	新井 剛	芝浦工業大学
燃料デブリ取り出しを容易にするゲル状充填材の開 発	牟田 浩明	大阪大学
レーザー蛍光法を用いた燃料デブリ変質相の同定	斉藤 拓巳	東京大学
過酷炉心放射線環境における線量測定装置の開発	岡本 保	木更津工業高等 専門学校
レーザー加工により発生する微粒子の解析と核種同 定手法の開発	長谷川 秀一	東京大学

課題解決型廃炉研究プログラム

課題名	研究代表者 所属機関			
合金相を含む燃料デブリの安定性評価のための基盤 研究	桐島 陽	東北大学		
ガンマ線画像スペクトル分光法による高放射線場環 境の画像化による定量的放射能分布解析法	谷森 達	京都大学		
燃料デブリ取出し時における放射性核種飛散防止技 術の開発	鈴木 俊一	東京大学		
アルファダストの検出を目指した超高位置分解能イ メージング装置の開発	黒澤 俊介	東北大学		

課題名	研究代表者	所属機関	
ナノ粒子を用いた透明遮へい材の開発研究	渡邊隆行	九州大学	
先端計測技術の融合で実現する高耐放射線燃料デブ リセンサーの研究開発	萩原 雅之	大学共同利用機 関法人高エネル ギー加速器研究 機構	

表 2-1 平成 30 年度採択課題一覧 (3/3)

国際協力型廃炉研究プログラム(日英共同研究)

課題名	研究代表者	所属機関
放射性微粒子の基礎物性解明による廃炉作業リスク 低減への貢献	五十嵐 康人	茨城大学
放射線耐性の高い薄型 SiC 中性子検出器の開発	三澤毅	京都大学

国際協力型廃炉研究プログラム(日仏共同研究)

課題名	研究代表者	所属機関
採択なし	_	_

本報告書は上記のうち、共通基盤型原子力研究プログラム【若手研究】「ラドンを代表としたア ルファ核種の吸入による内部被ばくの横断的生体影響評価」について記したものである。 研究成果を取りまとめた成果報告書を付録として添付する。

付録

成果報告書

This is a blank page.

平成 30 年度

日本原子力研究開発機構

英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業

ラドンを代表としたアルファ核種の吸入 による内部被ばくの横断的生体影響 (契約番号 301110)

成果報告書

平成 31 年 3 月 国立大学法人 岡山大学

JAEA-Review 2019-024

本報告書は、国立研究開発法人日本原子力研究 開発機構の「英知を結集した原子力技術・人材育 成推進事業」による委託業務として、岡山大学 が実施した平成30年度「ラドンを代表としたア ルファ核種の吸入による内部被ばくの横断的生 体影響評価」の成果を取りまとめたものです。

目次

概略 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
1. はじめに・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・
2. 業務計画 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
2.1 全体計画 ····································
2.1.1 体内での活性酸素種産生,抗酸化機能の役割,DNA 損傷の検討・・・・・・・・・・・・・・・・3
2.1.1.1 平成 30 年度 · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
2.1.1.2 平成 31 年度 · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
2.1.1.3 平成 32 年度 · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
2.1.2 アルファ線のマイクロドジメトリに関する研究
2.1.2.1 平成 30 年度 · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
2.1.2.2 平成 31 年度 · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
2.1.2.3 平成 32 年度 · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
2.1.3 メタボローム解析に関する研究4
2.1.3.1 平成 30 年度 · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
2.1.3.2 平成 31 年度 · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
2.1.3.3 平成 32 年度 · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
2.2 平成 30 年度の成果の目標及び業務の実施方法4
2.2.1 体内での活性酸素種産生,抗酸化機能の役割,DNA 損傷の検討・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・
2. 2. 1. 1 動物実験 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
2.2.1.2 被ばく後の生体内過酸化水素および抗酸化機能関連物質の測定 ・・・・・・5
2. 2. 1. 3 文献調査 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
2.2.2 アルファ線のマイクロドジメトリに関する研究
2.2.2.1 パラメータの検討・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・5
2. 2. 2. 1. 1 文献調査 ······5
2. 2. 2. 1. 2 実験準備 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・
2.2.3 メタボローム解析に関する研究
2.2.3.1 ラドンの曝露実験と分析試料の調整
2. 2. 3. 2 メタボロ―ム解析 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・
3. 平成 30 年度の実施内容及び成果・・・・・9
3.1 体内での活性酸素種産生,抗酸化機能の役割,DNA 損傷の検討・・・・・・・・・・・・・・・・9
3.1.1 ラドンの曝露実験と分析試料の調整9
3.1.1.1 はじめに・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・9
3.1.1.2 ラドン曝露装置の概要・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・
3.1.1.3 ラドン吸入・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

3.1.1.4 分析方法 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
3.1.1.5 統計処理 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
3.1.1.6 結果と考察・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・
3.1.1.7 まとめ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・
3.1.2 文献調査
3.1.2.1 はじめに・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・18
3.1.2.2 文献調査 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
3.1.2.2.1 プルトニウムの体内動態 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・18
3.1.2.2.2 プルトニウムの吸入投与実験 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・19
3.1.2.2.3 アルファ放射体内部被ばく生物影響研究 ―プルトニウム発がん実験を中
心に― ・・・・・19
3.1.2.2.4 プルトニウムの吸入被ばくによる発がん等生物影響 ―動物実験でどこま
で明らかにされたか—
3.1.2.2.5 生物学的安全性評価研究におけるプルトニウムの線量評価 ・・・・・・21
3.1.2.2.6 プルトニウム影響のリスク低減化に関する研究 ・・・・・・・・・・21
3.1.2.2.7 プルトニウム動物実験施設の設計と管理経験 ・・・・・・・・・・・・23
3.1.2.2.8 まとめ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・
3.1.3 ラドン曝露後の活性酸素種産生の解析
3.1.3.1 はじめに・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・25
3.1.3.2 ラドン吸入・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・
3.1.3.3 分析方法 ·······25
3.1.3.4 統計処理 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
3.1.3.5 結果と考察・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・26
3.1.3.6 まとめ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・
参考文献 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
3.2 アルファ線のマイクロドジメトリに関する研究(再委託先:原子力機構)33
3.2.1 パラメータの検討・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・33
3. 2. 1. 1 文献調査 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
3.2.1.1.1 背景と目的
3. 2. 1. 1. 2 方法 · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
3. 2. 1. 1. 3 結果と考察 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・
3.2.1.1.4 まとめ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・34
3.2.1.2 実験準備・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・
3. 2. 1. 2. 1 背景と目的 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・
3. 2. 1. 2. 2 方法 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
3. 2. 1. 2. 3 結果と考察 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・
3.2.1.2.4 まとめ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・35
参考文献
3.3 メタボローム解析に関する研究(再委託先:原子力機構)

	3.3.1 ラト	ドンの曝露実験	後と分析詞	式料の調	整	 	
	3.3.2 メタ	マボローム解析	í			 	
	3. 3. 2. 1	背景と目的 ·				 	
	3.3.2.2	方法 · · · · ·				 	 39
	3. 3. 2. 3	結果と考察・				 	 • • • • • • • • • 41
	3. 3. 2. 4	まとめ・・・・				 	 42
	参考文献 …					 	 43
4.	結言・・・・・					 	 • • • • • • • • • 45

表一覧

表 2-1	全体計画 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
表 2-2	平成 30 年度の計画・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・8

図 3-1	線エネルギ-	-付与(Li	ner Energy	/Transfer,	LET),	線エネルギー	(Lineal Energy,
y), 比	ニネルギー	(Specific	Energy, z	」の概念図			37
図 3-2	SOMの構成・						

略語一覧

AMAD	:	Activity Median Aerodynamic Diameter	(空気力学的放射能中央径)				
CAT	:	Catalase	(カタラーゼ)				
CCI4	:	Carbon tetrachloride	(四塩化炭素)				
CLADS	:	Collaborative Laboratories for Advanced	Decommissioning Science				
			(廃炉国際共同研究センター)				
GPx	:	Glutathione peroxidase	(グルタチオンペルオキシダーゼ)				
GSD	:	Geometric Standard Deviation	(幾何標準偏差)				
GSH	:	Glutathione	(グルタチオン)				
GSSG	:	Oxidized glutathione	(酸化型グルタチオン)				
H_2O_2	:	Hydrogen peroxide	(過酸化水素)				
IRID	:	International Research Institute for Nuc	lear Decommissioning				
			(国際廃炉研究開発機構)				
LET	:	Linear Energy Transfer	(線エネルギー付与)				
LP0	:	Lipid peroxide	(過酸化脂質)				
OH^-	:	Hydroxyl radical	(ヒドロキシルラジカル)				
0_2^-	:	Superoxide anion	(スーパーオキシドアニオン)				
PBS	:	Phosphate Buffered Saline	(リン酸緩衝生理食塩水)				
PHITS	:	Particle and Heavy Ion Transport code Sy	vstem				
			(粒子・重イオン輸送計算コード)				
RBE	:	Relative Biological Effectiveness	(生物学的効果比)				
ROS	:	Reactive Oxygen Species	(活性酸素種)				
SOD	:	Superoxide dismutase	(スーパーオキシドディスムターゼ)				
SOM	:	Self-organizing maps	(自己組織化マップ)				
STZ	:	Streptozotocin	(ストレプトゾトシン)				
t-GSH	:	Total glutathione	(総グルタチオン)				
XOD	:	Xanthine oxidase	(キサンチンオキシダーゼ)				
8-0HdG	:	8-hydroxy-2'-deoxyguanosine	(8-ヒドロキシデオキシグアノシン)				

概略

原子力損害賠償・廃炉等支援機構の6つの重要研究開発課題のひとつとして、「廃炉工程で発 生する放射性飛散微粒子挙動の解明(αダスト対策を含む)」が挙げられており、αダストの物 理的化学的性質等の性状把握やその閉じ込め対策の検討が進められ、燃料デブリ取り出し時の安 全確保が図られている。廃炉作業者の健康を守るためには、1F 廃炉に向けたα核種の吸入による 生物学的影響評価を進めていくことが重要である。

本研究の目的は、α核種の吸入による生物学的影響をマイクロドジメトリ、組織レベル、生体 レベルで横断的に検討することである。目標を達成するために、以下の4つを検討する。①ラド ンまたはプルトニウムから放出されたα線がヒットした細胞が受ける線量、および、バイスタン ダー効果による周辺細胞への影響を考慮した生物学的効果比(RBE)を定量的に算出する。②生 体内でα線が放出された際に起こる物理的反応により生じる活性酸素種(ROS)の測定と、それ を消去する抗酸化機能の測定、ROSにより生じた DNAの酸化損傷、および、ラドンからのα線と 廃炉に伴うαダストの作業環境での挙動、体内での挙動などの文献調査により、ラドンをモデル としたα核種の被ばく影響の推定の課題を検討するとともに、現地の大気中のラドンの測定や、 IF 周辺のα核種の文献調査結果を本課題の結果と関連付け、より実際に近い生物学的影響の推定 に寄与する。③網羅的な生体内代謝物の変動を調査し、被ばく影響評価をすることで、将来的に は放射線防護剤となり得る薬剤の探索を行う。④専門分野が異なる研究組織であり分野横断的で あるが、研究推進のため、互いの研究成果報告会を実施する。

これまでのラドンに関するマイクロドジメトリの研究では、ラドンの肺がんリスクを懸念して、 呼吸器の構造に注目したラドン子孫核種による線量評価が行われていた。上記①では、吸入した ラドンが肺のガス交換により血液によって全身へ運ばれた場合の諸臓器中での内部被ばくについ て検討するため、細胞の大きさや線源(ラドン)の位置を細かく設定したマイクロドジメトリが 必要であるとわかった。そこで、本研究では、Particle and Heavy Ion Transport code System (PHITS, 粒子・重イオン輸送計算コード)を用い、3次元的に H₂0 で満たした細胞を配置して、 細胞の大きさや線源の位置を細かく設定し、マイクロドジメトリの計算を行った。

上記②では、α核種であるラドンをマウスに吸入させ、酸化ストレスに着目し、生体影響について評価した。その結果、ラドン吸入により肝臓中と心臓中の過酸化脂質(LPO)量が有意に減少したことから、ラドン吸入は酸化ストレスを軽減することが示唆できた。他方、高濃度のラドンを吸入した場合、肺中のLPO量が有意に増加したことから、酸化ストレスを誘導することが示唆できた。これは、ラドンが気体であり、呼吸を介して体内に取り込まれるためだと考えられた。 実際に、肺中の過酸化水素(H₂O₂)の産生量が約 20%増加したことからも裏付けられた。また、 プルトニウムの体内動態、吸入投与実験、発がん実験、線量評価、リスク低減などの文献調査を することで、ラドンとの違いについて調査した。

上記③では、α核種であるラドンをマウスに吸入させ、抗酸化物質の一つであるグルタチオン を含む硫黄化合物に注目し、メタボローム解析を行った。その結果、検出された化合物の中から、 ラドン吸入によって有意に変化する化合物を複数見い出した。また、その網羅的な分析結果を、 主成分分析、ウォード法によるクラスタ分析、機械学習でデータ解析し、本研究のメタボローム 解析に有効なデータ解析手法を比較検討した。

打合せは全7回行った。そのうち、実験の実施に直接関連のある打合せが計5回、分析に関す

vii

る打合せが1回,廃炉国際共同研究センター(CLADS)との打合せを1回実施した。

従来は、ラドン被ばくのリスク評価は呼吸器系のみで、肺がんに着目した研究がほとんどであった。しかし、我々は、肺のガス交換によりラドンが全身に分布すること、また、その時の吸収線量などを明らかにしており、体内に取り込んだラドンから放出されるα線の影響も検討できる実験系を確立させてきた。その知見を他のα粒子の影響評価に応用することで、原子力基盤技術を安全最優先で進めるための貴重な知見が得られることが期待される。

1. はじめに

原子力損害賠償・廃炉等支援機構の6つの重要研究開発課題のひとつとして、「廃炉工程で発 生する放射性飛散微粒子挙動の解明(αダスト対策を含む)」が挙げられており、αダストの物 理的化学的性質等の性状把握やその閉じ込め対策の検討が進められ、燃料デブリ取り出し時の安 全確保が図られている。それと同時に、プルトニウムのようなα核種の吸入による生物学的影響 評価も重要と言えるが、その体内動態や特に低線量での健康影響は不明な点が多く、課題も山積 されている。

ところで、ラドンはα線放出核種であり、タバコに次ぐ肺がんのリスク因子として知られ、疫 学調査や動物実験で多くの肺がんに関する研究が実施され、その体内動態や吸入ラドンから受け る各臓器の吸収線量なども明らかとなっている。したがって、α線の内部被ばくによる健康影響 を評価するために、ラドンの活用の可能性が考えられる。我々はこれまで、マウスを用い、ラド ン吸入による超低線量での各臓器への影響を調査してきた。推定された吸収線量を検討しても、 ラドンの生体影響は、X線などのそれよりも大きく表れ、線エネルギー付与(LET)が大きいα核 種では各臓器での付与エネルギーが不均一であることがその一因であると予測できた。しかし、 この機構は完全に明らかになっておらず、廃炉作業者の健康を守るためには、1F廃炉に向けたα 核種の吸入による生物学的影響評価を進めていくことが重要である。

本研究の目的は、α核種の吸入による生物学的影響をマイクロドジメトリ、組織レベル、生体 レベルで横断的に検討することである。目標を達成するために、以下の4つを検討する。①ラド ンまたはプルトニウムから放出されたα線がヒットした細胞が受ける線量,および,バイスタン ダー効果による周辺細胞への影響を考慮した生物学的効果比(RBE)を定量的に算出する(担当 |者:迫田晃弘(原子力機構))。さらに、②生体内でα線が放出された際に起こる物理的反応に より生じる活性酸素種(ROS)の測定と、それを消去する抗酸化機能の測定、ROS により生じた DNA の酸化損傷,および、ラドンからのa線と廃炉に伴うaダストの作業環境での挙動、体内で の挙動などの文献調査により、 ラドンをモデルとした α 核種の被ばく影響の推定の課題を検討す るとともに、現地の大気中のラドンの測定や、1F周辺のα核種の文献調査結果を本課題の結果と 関連付け、より実際に近い生物学的影響の推定に寄与する(担当者:片岡隆浩(岡山大学))。 ③網羅的な生体内代謝物の変動を調査し、被ばく影響評価をすることで、将来的には放射線防護 剤となり得る薬剤の探索を行う(担当者:神崎訓枝(原子力機構))。④専門分野が異なる研究 組織であり分野横断的であるが、互いの研究成果報告会を実施することで研究推進をしていく。 生化学分析などのサンプルの鮮度を保つために迅速に分析をしなければならない時は大学院生な どにも研究協力を依頼し、また、シニア研究者(教授クラス)にも参画を依頼して適切な助言を お願いするなど、効果的な研究推進に努める。

従来は、ラドンの被ばくのリスク評価は呼吸器系のみで、肺がんに着目した研究がほとんどで あった。しかし、我々は、肺のガス交換によりラドンが全身に分布すること、また、その時の吸 収線量などを明らかにしており、体内に取り込んだラドンから放出されるα線の影響も検討でき る実験系を確立させてきたが、その知見を他のα粒子の影響評価に応用することで、原子力基盤 技術を安全最優先で進めるための貴重な知見が得られることが期待できる。マイクロドジメトリ や生物学的反応からの総合的な影響評価により、α核種の内部被ばくによる健康影響評価モデルの 構築を目指す。また、メタボローム解析では、近年、生物学的効果を網羅的に調べるオミックス

1

解析分野が発展しつつあり、情報工学的手法による効果的なデータ解析手法の確立が見込まれる。

2. 業務計画

2.1 全体計画

本業務の全体計画を表 2-1 に示す。それぞれの概要については、以下に示す。

2.1.1 体内での活性酸素種産生, 抗酸化機能の役割, DNA 損傷の検討

2.1.1.1 平成 30 年度

ラドンをマウスに曝露させ、サンプルを採取する。具体的には、マウスにラドンを 1,000 Bq/m^3 , 10,000 Bq/m^3 , 100,000 Bq/m^3 をそれぞれ 1 日曝露させ、マウスの脳、肺、心臓、肝臓、 すい臓、胃、腎臓、小腸、大腸、血液を採取する。活性酸素種として生体内で産生された過酸化 水素 (H_2O_2) を測定する。生体内の H_2O_2 の測定は、サンプル採取後速やかに行う必要があるため、 サンプル採取直後に分析を実施する。抗酸化酵素や酸化的 DNA 損傷の分析は、サンプルを-80℃ で凍結保存後、平成 31 年度以降に実施する。

プルトニウム-239, プルトニウム-238, アメリシウム-241, ネプツニウム-237 に関するα線の 健康影響に関する文献調査をする。それらの体内動態などについても調査をする。その際, ラド ンの健康影響および体内動態との違いについても検討する。

2.1.1.2 平成 31 年度

平成 30 年度に実施できなかった実験条件にて曝露実験を実施し,得られたサンプル中の H_2O_2 , カタラーゼを分析する。なお, H_2O_2 は放射線被ばくに限らず,生理的に産生されるものでもある ため, H_2O_2 の産生に関与するスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) も分析する。また, H_2O_2 によ り DNA の酸化的損傷が生じたか否かについても検討することで,将来の健康影響についても検討 する。

また、昨年度に引き続き、文献調査を実施する。

得られた成果は国内外の学会で発表する。

2.1.1.3 平成 32 年度

平成 30, 31 年度で得られたデータをもとに,論文の執筆を行う。なお,データが不足した場合,追加実験が必要となった場合は,平成 32 年度に実験を実施することもありうる。

また,文献調査で得られた知見を元に,ラドンをα線源としたαダストの健康影響評価についての展望について解説を執筆・投稿する。

得られた成果は国内外の学会で発表する。

2.1.2 アルファ線のマイクロドジメトリに関する研究

2.1.2.1 平成 30 年度

既存研究を参考に、バイスタンダー効果および適応等の数理モデルに関する情報を中心にまと め、本研究で行うマイクロドジメトリの条件を当てはめて応用できるか検討する。また、平成31 年度の体系構築とシミュレーションの実験準備として、基礎的検討を行う。

2.1.2.2 平成 31 年度

平成 30 年度にまとめた情報を基に仮説や定義を立て、マイクロドジメトリのための体系構築 とシミュレーションを行う。球体の細胞核を内包する球体の細胞を 3 次元で格子状に配置し、 α 粒子が細胞核・細胞質・細胞外で発生するパターンについて、沈着エネルギーの分布を計算する。 Particle and Heavy Ion Transport code System (PHITS、粒子・重イオン輸送計算コード)を 用い、微小空間での不均一性を表現する y 分布と z 分布を計算し、結果を考察する。

2.1.2.3 平成 32 年度

これまでに得られたデータを用いて岡山大学でのマウスの酸化ストレスや DNA 損傷の状態に関する結果を考察して,得られた研究成果は外部に向けて発表する。

2.1.3 メタボローム解析に関する研究

2.1.3.1 平成 30 年度

ラドンをマウスに曝露させ、サンプルを採取し、代謝物の変化を調べる。具体的には、マウス にラドン1,000 Bq/m³, 10,000 Bq/m³, 100,000 Bq/m³をそれぞれ1日曝露させ、マウスの血液、 脳、肝臓を採取する。採取した血液は、遠心分離し、血清を抽出して、-80℃で凍結保存する。 メタボローム解析での分析は外注し、得られたデータを機械学習などで解析し、メタボローム解 析のデータ解析手法を検討する。なお、ポジティブコントロールで代謝物の変化が全く見られな い場合には、ラドン曝露の濃度や時間を検討し直し、追実験を行う可能性もある。

2.1.3.2 平成 31 年度

平成 30 年度に得られた結果等を基に、ラドン濃度と吸入時間を変化させて、マトリックス的 に実験条件を設定し、生体サンプルを採取し、メタボローム解析を行う。網羅的に探索された代 謝物の変化の傾向をつかみ、多種多様な代謝物の関係性等を把握するため、古典的な統計手法だ けでなく、機械学習(自己組織化マップ)等の情報工学的手法を適用できるか検討し、メタボロ ーム解析に最適なデータ解析手法を検討する。

2.1.3.3 平成 32 年度

メタボローム解析への機械学習の適用について検討する。また、本研究全体で得られた結果を 総合的に評価して、α核種の内部被ばくによる生体内での代謝物の変化を考察する。なお、デー タが不足した場合は、平成 32 年度に実験を実施することもありうる。得られた成果は外部に向 けて発表する。

2.2 平成 30 年度の成果の目標及び業務の実施方法

本業務の平成30年度計画を表2-2に示す。それぞれの概要については、以下に示す。

2.2.1 体内での活性酸素種産生, 抗酸化機能の役割, DNA 損傷の検討

2.2.1.1 動物実験

4

マウスへのラドン曝露は岡山大学三朝キャンパス(鳥取県)に設置した小動物用ラドン曝露装

置を使用する。本装置は低濃度から高濃度のラドンを安定的に小動物に曝露できる装置である。 ラドンをマウスに曝露させた後にサンプルを採取する。具体的には、マウスにラドンを 1,000 Bq/m³, 10,000 Bq/m³, 100,000 Bq/m³をそれぞれ1日曝露させ、マウスの脳、肺、心臓、肝臓、 すい臓、胃、腎臓、小腸、大腸、血液を採取する。

2.2.1.2 被ばく後の生体内過酸化水素および抗酸化機能関連物質の測定

動物実験により摘出したサンプル中の活性酸素種として生体内で産生された H₂O₂ の測定を行う。 生体内の H₂O₂ の測定は、OxiSelect[™] 過酸化水素測定アッセイキットを使用する。また、カタラ ーゼ (CAT)、SOD、総グルタチオン (t-GSH)、過酸化脂質 (LPO) などの抗酸化機能関連物質に ついても分析する。

2.2.1.3 文献調査

プルトニウム-239 に関する α 線の健康影響に関する文献調査をする。それらの体内動態などに ついても調査をする。その際、ラドンの健康影響および体内動態との違いについても検討する。

2.2.2 アルファ線のマイクロドジメトリに関する研究

2.2.2.1 パラメータの検討

2.2.2.1.1 文献調査

気管支でのラドン子孫核種の不均一な分布の検討や PHITS を用いたマイクロドジメトリでの RBE 算出等の既存研究を参考にし、バイスタンダー効果や適応応答に関する数理モデルの情報を 中心にまとめ、本研究に当てはめて応用できるか検討する。

2.2.2.1.2 実験準備

細胞は、種類・部位・機能等によって大きさが違うため、本研究では、細胞核の半径を3 μ m ~7 μ mの球体とし、細胞を細胞核の1.5倍、2倍、3倍の大きさの球体に設定し、細胞の主成分 である H₂O で満たす。 α 線は水中での飛程は数+ μ m と短く、細胞数個分程度の外周の細胞まで にしか影響を与えないはずであるが、ブラッグピークを持つため、 α 核種が存在する細胞とブラ ッグピーク付近の細胞ではエネルギー付与に差異があると予想できる。平成 31 年度の体系構築 とシミュレーションの実験準備として、このような基礎的な部分の検証を、PHITS を用いて計算 する。

2.2.3 メタボローム解析に関する研究

2.2.3.1 ラドンの曝露実験と分析試料の調整

マウスへのラドン曝露は岡山大学三朝キャンパス(鳥取県)に設置した小動物用ラドン曝露装置を使用し、サンプルを採取する。具体的には、マウスにラドンを1,000 Bq/m³, 10,000 Bq/m³, 100,000 Bq/m³をそれぞれ1 日曝露させ、血液を採取する。採取した血液は、遠心分離し、血清を採取して、-80℃で凍結保存する。

2.2.3.2 メタボローム解析

データ解析のテストデータを得るため、ポジティブコントロールとなると予想できる 100,000 Bq/m³の一部サンプルのみ外注でメタボローム解析を行う。ここで得られたテストデータから網 羅的に探索された代謝物の変化の傾向をつかみ、平成 31 年度に行うデータ解析手法の候補とな る古典的な統計手法と先進的な機械学習などの情報工学的手法の検討を行う。

なお、メタボローム解析は、すでにメタボローム解析で実績をあげている外部専門家に助言を 頂き、効率的に実験を進める。しかし、本研究のようなラドン吸入による超低線量での内部被ば くは複雑な生体反応を示すため、もし代謝物の変化が全く見られない場合には、ラドン曝露の濃 度や時間を検討し直し、追実験を行う可能性もある。

表 2-1 全体計画

項目 年度	平成30年度	平成31年度	平成32年度
 (1)体内での活性酸素種産生,抗酸化機能の役割, DNA損傷の検討(岡山大学) ①ラドンの曝露実験と分析試料の調整 ②活性酸素種,抗酸化能,DNA損傷・修復の解析 	動物実験 ● ■ ROS分析 ●	b物実験 ✦────抗酸化機能,DN ✦────	取りまとめ・ A損傷・修復 論文投稿 → ▲ →
 (2) α線のマイクロドジメトリに関する研究 (日本原子力研究開発機構) ①文献調査,パラメータの検討 ②シミュレーション 	文献調査 ◀────►	パラメータ の決定 ・ ・ ・ PHITSIニよるシ	取りまとめ・ ミュレーション 論文投稿 →★
 (3)メタボローム解析に関する研究 (日本原子力研究開発機構) ①ラドンの曝露実験と分析試料の調整 ②メタボローム解析 	動物実験 動 メタボロー 解析(外注) 	物実験 ▲ メタボローム 解析 (外注) ギータ解析手法の検討	取りまとめ・ 論文投稿 データ解析
(4)研究推進	▲ △ まとめ・評価	研究実施計画推進会議の開催	ک ک <i>sとن</i> ان ۲۰۹۳

表 2-2 平成 30 年度の計画

実施日程	4 月	5	月	6	月	7	月	8	月	9	月	10	₹	11	月	12	月	1	月	2)]	3 月
 (1)体内での活性酸素種産生,抗酸化機能の役割, DNA損傷の検討(岡山大学) ①ラドンの曝露実験と分析試料の調整 												動物	1.1	計画書	審査 ラ	i シ浪	度評↓	西曝 ↓ 調査	露実	ġ.		
②ラドン曝露後の活性酸素種産生の解析												-								活性育	發濟 和	重の測定
 (2) α線のマイクロドジメトリに関する研究 (原子力機構) ①パラメータの検討 a. 文献調査 b. 実験準備 												•		文献間	査		•	-		実験祥	١.(ŧţ	
 (3) メタボローム解析に関する研究 (原子力機構) ①ラドンの曝露実験と分析試料の調整 ②メタボローム解析 												<u>動物</u>	実験	計画書	審 う	E ペン濃	度評(西場	露実	後 メタボ		ム解析
(4)研究推進												研 3	実	施計画	推进	会議	の開行	ŧ.				
												Δ						Δ		•	att	まとめ

3. 平成 30 年度の実施内容及び成果

3.1 体内での活性酸素種産生, 抗酸化機能の役割, DNA 損傷の検討

3.1.1 ラドンの曝露実験と分析試料の調整

3.1.1.1 はじめに

低線量放射線による生体への影響についての検討は明確な応答を示さなかったため,高線量域 における影響を低線量域に直接外挿し,低線量であっても生体に害をもたらすという直線モデル 説が一般的に受容されていた。我々は今までに,低線量放射線照射は抗酸化機能や免疫機能など の生体防御機構を活性化することを報告してきた。例えば,低線量 X 線照射により脳,肝臓,胸 腺,脾臓,骨髄の SOD 活性が増加し,酸化ストレスの指標である LPO 量が減少することが報告さ れている。これら抗酸化機能の亢進は照射直後からみられ,数週間持続する¹⁾。また,膵臓中の グルタチオンペルオキシダーゼ(GPx)活性は放射線感受性の高い BALB/c マウスでも,放射線抵抗 性の C57BL/6NJc1 でも低線量 X 線照射により増加することから,放射線感受性に依存しない普遍 的な現象であること,GPx 活性の増加は賦活化ではなく誘導合成であることもわかった²⁾。さら に,肝臓中のグルタチオン (GSH)量は低線量 y 線照射により増加することも報告されている³⁾。 これらの結果より,低線量放射線照射は多くの臓器で抗酸化酵素や抗酸化物質を増加させること が示唆された。

他方,活性酸素を含むフリーラジカルにより生体に酸化障害が生じ,それが老化,癌を含む生 活習慣病の遠因となることが明らかになるにつれ,フリーラジカルによる生体の障害とその防御 が広い分野から注目されている^{4,5)}。すなわち,薬物,金属,ストレスなどの種々の引き金によ って生成した活性酸素やフリーラジカルが脂質,タンパク質,糖,DNA などを攻撃し,脂質,糖 質の酸化,タンパク質の変性,酵素の不活性化,あるいは DNA の主鎖切断,塩基の修飾を起こす。 その結果,生体膜の損傷,遺伝子の傷害が生じ,その蓄積が老化や生活習慣病などを生じさせる。 これに対し,生体は酸素を利用する過程で生成される活性酸素による障害を防御するために生体 は様々な化学的防御機構をもっている。この防御機構は適度な酸化ストレス,すなわち少量の活 性酸素を生体内に発生させる環境下では活性化する可能性があり,注目されている。

実際に、低線量放射線照射による抗酸化機能の亢進により、各種酸化ストレスが抑制されるか 否かについての報告も多くある。例えば、鉄ニトリロ三酢酸誘導⁶⁾または四塩化炭素(CC1₄)誘 導肝障害⁷⁾は、各々投与前に低線量 X 線照射することにより抑制された。これは、低線量 X 線照 射により肝臓中の抗酸化機能が亢進することで、鉄ニトリロ三酢酸や CC1₄投与により生じた活性 酸素種やフリーラジカルを抑制したためと示唆された。特に CC1₄肝障害に対し、事後の低線量照 射は鉄ニトリロ三酢酸⁸⁾または CC1₄誘導肝障害⁹⁾からの回復を促進する作用のあることが明らか となり、活性酸素種やフリーラジカルに由来する疾患に対し予防や治療効果のあることが示唆さ れた。他方、CC1₄投与後に低線量または高線量照射した場合、低線量照射では CC1₄誘導肝障害か らの回復を促進するものの、高線量照射では回復しないことも示唆された¹⁰⁾。このように、酸化 ストレスに対する低線量放射線と高線量放射線の作用は異なると考えられる。

肝臓の他に、1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine 誘導の脳の酸化ストレスが低線 量 γ 線照射により¹¹,また、凍結脳損傷による脳浮腫は低線量X線照射により抑制されることや¹², 1型糖尿病¹³,虚血-再灌流障害に伴う浮腫¹⁴が抑制されることなども報告されており、低線量X 線または γ 線照射は脳、肝臓、膵臓への酸化ストレスに関し効果のあることが示唆された。いず れも ROS やフリーラジカルにより誘導される疾患であることから、低線量 X 線, γ線照射による 抗酸化機能の亢進がそれらの予防に寄与していると考えられている。

他方、ラドン(α線放出核種、気体)を活用した医療は、欧州や日本で古くから行われており、 医学的効果のあることが報告されていた。我々は以前、ドイツ語で執筆されたラドン療法に関す る論文を翻訳し、総説として紹介した¹⁵⁾。すなわち、欧州では強直性脊椎炎などの疼痛関連疾患 患者に対して坑道内に充満したラドンを吸入、またはラドン温泉を活用した医療が実施されてい る。強直性脊椎炎は、脊椎、仙腸関節、股関節、肩関節などに炎症(痛みや腫れなど)が生じる 脊椎関節炎の中の代表的な疾患であり、ドイツでは成人の1%が発病するが、日本人はその20分 の1と少ない¹⁰⁾。強直性脊椎炎患者にラドン療法を実施した結果,ラドン群の疼痛の緩和効果が 約1年間持続することがわかった17。その後も108名の患者について12年間の追跡調査がされ, 定期的なラドン療法は鎮痛薬の服用を持続的に軽減させ,完全に停止する場合もあった¹⁸⁾。ラド ン温熱治療、サウナ療法、対照は自宅からの外来診療(週1回)がそれぞれ実施された結果、ラ ドン温熱治療と温熱治療は開始1ヵ月後に、さらにラドン温熱治療は開始4、7ヵ月後に、それ ぞれ有意な改善効果があった。これより、ラドン温熱治療のみに持続的な改善効果のあることが 明らかになった¹⁹⁾。また、ラドン療法により4ヵ月後に変形性脊椎症と変形性関節症の痛みが有 意に緩和すること²⁰⁾,関節リウマチ患者へのラドン療法により治療終了6ヵ月後以降,疼痛強度 と機能障害が有意に改善すること²¹⁾, ラドン療法終了から1年間, 抗炎症薬・鎮痛薬の服用量が 減少することも報告されている²²⁾。

他方,三朝温泉(鳥取県)では、ラドン温泉を活用した温泉療法が実施されてきた。適応症に は、疼痛性疾患(関節リウマチ、変形性関節症²³⁾など)、呼吸器疾患(気管支喘息²⁴⁾、特に重症難 治性喘息など)、消化器疾患(慢性膵臓炎、消化性潰瘍、胃腸炎など)、慢性退行性疾患(高血圧、 動脈硬化、糖尿病など)などがあり、"若返りの湯"とも言われている。例えば、変形性関節症 の患者に対し、旧岡山大学病院三朝医療センターのラドン高濃度熱気浴室(2,080 Bq/m³,42°C、 90%湿度)において1日1回40分の治療を隔日に施している。その結果、抗酸化機能の亢進、酸 化障害の緩和、免疫機能の亢進、組織循環の促進、疼痛を寛解させるなどの効果があるとの報告 がある²³⁾。欧州、日本のラドン療法ともに疼痛関連疾患への効果、治療方法、治療期間など共通 する点が多いものの、治療に使用するラドン濃度は欧州の方が三朝に比べて1桁高く、ラドン療 法の機構に関し不明な点は多い。

ラドン療法の機構解明のため,我々はいくつかの小動物用ラドン吸入装置を研究開発した²⁵⁻²⁷⁾。 これらラドン吸入装置の特長は,法規制以下のラドン線源を利用しているため,汎用性が高いこ とである。これら小動物用ラドン吸入装置の開発は,本研究課題「ラドンを代表としたアルファ 核種の吸入による内部被ばくの横断的生体影響」を実施する上で非常に重要な開発であった。こ れらラドン吸入装置を用いたラドン療法の機構解明の結果,以下のことが明らかとなった。

上述のごとく,低線量 X 線または γ 線照射によりマウス諸臓器中の抗酸化機能が亢進すること で ROS やフリーラジカル誘導の各種疾患が抑制することが報告されている。そこで,三朝温泉を 活用したラドン療法のラドン濃度を参考に,ラドン吸入によるマウス諸臓器中の抗酸化機能の亢 進について,ラドン濃度・吸入時間依存性について検討した。その結果,臓器により特性の違い はあるものの,ラドン吸入開始 1~2 日に抗酸化機能が亢進することが明らかとなった²⁸⁾。これ より,ラドン療法の有益効果には,抗酸化機能の亢進が関与していることが示唆できた。 そこで、酸化ストレス誘導の各種疾患モデルマウスを作製し、ラドン吸入によるそれらの抑制 効果について検討した。例えば、一過性脳虚血による脳の神経細胞の障害は、Mn-SODにより抑制 されることが報告されていることから²⁹⁾、一過性脳虚血による障害はスーパーオキシドアニオン (0^{2⁻}) などの ROS が関与していると考えられる。そこで、ラドン吸入による一過性脳虚血に伴う 細胞障害の抑制効果について検討した。その結果、ラドン吸入により脳中の SOD 活性が増加し、

ー過性脳虚血誘導の神経細胞障害が抑制することがわかった³⁰⁾。同様の効果はアスコルビン酸 (ビタミン C) 投与でも確認できたことから,ラドン吸入はアスコルビン酸投与と同様の効果の あることも示唆できた³¹⁾。また,ラドン吸入により肝臓中の抗酸化機能が亢進することで CCl₄ 誘導肝障害^{32,33)} や急性アルコール肝障害^{34,35)},なども抑制されたことから,低線量 X 線や γ 線 照射と同様の効果のあることが明らかとなった。さらに、ラドン吸入によるストレプトゾトシン

(STZ) 誘導 1 型糖尿病の抑制効果についても検討した³⁶⁾。STZ は ROS の産生とアルキル化を介 して膵臓内 β 細胞を特異的に破壊・萎縮させ、インスリン分泌を抑制することで 1 型糖尿病を誘 導する³⁷⁾。これに対し、ラドン吸入により膵臓中の抗酸化酵素・物質が増加したことで ROS が 消去され、これに伴い β 細胞の委縮が抑制され、インスリン分泌も正常値に近づくとともに血糖 値が有意に減少することが明らかにできた。その他、CC14誘導肺、心臓の酸化ストレス³⁸⁾ CC14誘 導腎障害^{32,39)} などの酸化ストレスに対しラドン吸入が有用であることを報告してきた。

また、ラドン温泉の飲水によるオキソン酸カリウム誘導高尿酸血症⁴⁰⁾、アルコール誘導胃粘 膜障害⁴¹⁾の抑制効果についても報告されている。例えば、ラドン温泉水、ラドン脱気温泉水、 蒸留水を2週間継続して自由経口摂取させた後に、アルコールを胃に直接投与し胃粘膜障害を誘 導した。その結果、飲泉は抗酸化機能を亢進させることによりアルコール投与に伴う胃粘膜障害 を抑制したが、脱気温泉水の飲泉の場合も抑制されたことからラドン温泉水の化学成分が関与し ていることも報告されている⁴¹⁾。

さらに、ラドン吸入はカラゲニン誘導炎症性足浮腫²⁷⁾、デキストラン硫酸ナトリウム誘導大 腸炎⁴²⁾、ホルマリン誘導炎症性疼痛⁴³⁾などの炎症を抑制することが報告されている。マウス後 肢にホルマリンを投与した場合、血清中の tumor necrosis factor- α 値と一酸化窒素値が有意に 増加し、炎症性疼痛を誘導することが報告されている。これに対し、ラドン吸入により炎症関連 物質や疼痛様行動が有意に減少した。すなわち、ラドン吸入により抗炎症作用が生じることが示 唆できた⁴³⁾。その上、ラドン吸入は抗酸化機能亢進することで神経障害性疼痛を緩和すること なども示唆した^{44,45)}。

ラドン吸入による抗酸化力を明らかにするため、CC14 誘導マウス肝障害に対するラドン吸入と アスコルビン酸投与または α -トコフェロール(ビタミンE)投与による肝障害の抑制効果を比較 した。その結果、肝機能・酸化ストレス量・肝細胞の壊死の抑制効果の程度からラドン濃度が 1,000 Bq/m³または 2,000 Bq/m³で 24 時間吸入した場合の抑制効果は、概ねアスコルビン酸 500 mg/kg体重投与、 α -トコフェロール 300 mg/kg体重投与のそれに相当することがわかった³³⁾。 また、一過性脳虚血の場合は 2,000 Bq/m³で 24 時間のラドン吸入と 500 mg/kg体重アスコルビ ン酸投与が³¹⁾、CC14 誘導マウス腎障害の場合は 2,000 Bq/m³で 24 時間のラドン吸入と 300~500 mg/kg体重の α -トコフェロール投与が³⁹⁾それぞれ等しいことも明らかにできた。さらに、神経 障害性疼痛に対するラドン吸入と疼痛治療薬プレガバリンの疼痛緩和効果を比較した場合、 1,000 Bq/m³で 24 時間のラドン吸入は 1.4 mg/kg体重プレガバリン投与の抑制効果に相当するこ

11

とがわかった 45)。

さらに、ラドン吸入と抗酸化物質などとの併用効果について検討した。急性アルコール肝障害 に対するラドン吸入とアスコルビン酸投与または α -トコフェロール投与の併用は、それぞれ単 独で処理した時よりも肝機能の改善の程度が大きいこと³⁵⁾、1,000 Bq/m³で24時間のラドン吸 入と3 mg/kg 体重プレガバリン投与の併用は、プレガバリン約4.1 mg/kg 体重に相当すること もわかった⁴⁵⁾。

SOD には、活性中心となる金属により Cu/Zn-SOD, Fe-SOD, Mn-SOD のアイソザイムがある。また、Cu/Zn-SOD は細胞質に、Mn-SOD はミトコンドリアに多く局在している。我々は、この SOD に関してラドン吸入によりミトコンドリア分画では増加したものの、細胞質分画では変化しないことを明らかにした。また、同様にMn-SOD 量は増加し Cu/Zn-SOD 量は変化しないことがわかった。これは、ラドン吸入による酸化ストレスを介して Mn-SOD が合成されることについても明らかにした⁴⁶⁾。

本研究課題の目的は α 核種の吸入による内部被ばくの横断的生体影響評価であるが、ラドンによる生体影響を議論する上で、ラドンの体内挙動と各組織・臓器への吸収線量を定量的に評価することは欠かせない。ラドンの基本的な特性として次のようなものがあるとされる⁴⁷⁾。ラドンは希ガス類に属し、化学的に不活性な気体であるため、どの身体構成成分とも反応しない。皮膚吸収、飲水、および肺でのガス交換の原理で血液へ溶解し、血流により全身の各組織・臓器に供給される。ラドンから放出される α 線のエネルギーは 5.49 MeV、物理学的半減期は 3.8 日である。生物学的半減期は個人の活動レベル(血流量や呼吸量)などの違いに影響される。例えばGosink らは、飲水によって取り込まれたラドンの生物学的半減期に関し、被験者が通常の活動状態では 45~65 分、安静状態(睡眠中)では 11.2 時間であったと報告している⁴⁸⁾。

ラドンは肺がんのリスク因子であることは広く知られているが,我々は,肺以外の諸臓器中の 抗酸化機能の亢進と酸化ストレス関連疾患の抑制効果,疼痛緩和効果などの報告しており,ラド ンが肺以外の組織に及ぼす影響も評価できた。²³⁸Pu と²⁴¹Am が放出する α線のエネルギーはそれ ぞれ 5.499 MeV 5.486 MeV であり,ラドンとほぼ同じであることから,ラドンが²³⁸Pu や²⁴¹Am の ような α核種の内部被ばくを検討する基礎的なデータとなりうると考えられる。しかし,肺以外 の組織でラドンが生体内で産生する ROS やそれによる DNA 損傷の程度の報告はない。そのため, プルトニウムのような α線放出核種の体内での ROS 産生,抗酸化機能の役割, DNA 損傷の検討の ため,ラドンの活用の可能性が考えられた。平成 30 年度は、岡山大学三朝キャンパスに設置し た小動物用ラドン曝露装置を使用し、マウスにラドンをマウスに曝露させるためのサンプルを採 取した。具体的には、マウスに 1,000 Bq/m³, 10,000 Bq/m³, 00,000 Bq/m³のラドンをそれぞれ 1 日曝露させ、マウスの脳、肺、心臓、肝臓、すい臓、胃、腎臓、小腸、大腸、血液を採取した。 脳、肺、心臓、肝臓、すい臓、胃、腎臓、小腸、大腸の抗酸化機能の分析をした。なお、血液は メタボローム解析(後述)に使用し、本分析に必要なサンプル量を確保できなかったため、実施 していない。

3.1.1.2 ラドン曝露装置の概要

本研究のラドン吸入曝露は、岡山大学三朝キャンパスに設置された「三朝ラドン効果研究施設」 で行った。本施設は岡山大学動物実験規則に則り設備されている。本施設の全体概要は既報²⁶⁾ で詳しく紹介しており、ここでは中心的な設備であるラドン曝露装置について概説する。

本曝露装置はラドン源,減衰容器,飼育ケージ,ラドン測定器,ポンプ,流量計,換気装置な どで構成される。ラドン源はの天然土壌(約100 kg)をステンレス製容器(約120 L)に密封し たもので,これを複数用意した。ラドンは直接小さな飼育ケージに供給されるため,ラドン源に 放射性物質などに該当しない天然土壌を用いても十分な強度を示すことがわかっている。減衰容 器は空のステンレス容器であり,ラドン源の中でラドン(²²²Rn,半減期 3.82 H)と混在する同 位体のトロン(²²⁰Rn,半減期 55.6 秒)を初期濃度から無視できる程度まで除去する目的で,ラ ドン源の後ろに設置した。飼育ケージはプラスチック製容器(約14 L)で,曝露試験中には適切 な回数の換気が維持される。ラドン濃度は,パルス式電離箱ラドン濃度測定器(AlphaGUARD, Saphymo, Germany)によって連続的に測定される。また,施設内は空調設備で中央制御しており, 全体としての屋外空気による換気は毎時4回行われる。照明はタイマー制御によって日照時間を 摸擬している。

ラドン濃度の制御について説明する。一般に,ある容器内のラドンの収支は次の式で表現できる。

$$\frac{\mathrm{d}C}{\mathrm{d}t} = \frac{\nu C_{\mathrm{out}}}{\nu} - \lambda C + \frac{R}{\nu} - \frac{\nu C}{\nu} \tag{1}$$

C は容器内のラドン濃度 (Bq/m³), V は容器の容積 (m³), v は換気量 (m³/sec), C_{out} は外気のラド ン濃度 (Bq/m³), λ はラドンの壊変定数 (1/sec), R はラドンの供給量 (Bq/sec)である。これを 定常状態 (dC/dt=0) で解けば, ラドン源のラドン濃度 C_{RS}, 減衰容器のラドン濃度 C_{DC}, および 飼育ケージのラドン濃度 C_{AC} は次の通りとなる。なお添字は, RS がラドン源, DC が減衰容器, お よび AC が飼育ケージを意味する。

$$C_{RS} = \frac{1}{\lambda + \frac{v_{RS}}{V_{RS}}} \times \frac{R_{RS}}{V_{RS}} \qquad (\because C_{out} = 0)$$
(2)

減衰容器 (DC) :

$$C_{DC} = \frac{1}{\lambda + \frac{v_{DC}}{V_{DC}}} \times \frac{v_{DC}}{V_{DC}} r_{DC} C_{RS} \qquad (\because R = 0, \ r_{DC} = \frac{v_{RS}}{v_{DC}} < 1)$$
(3)

飼育ケージ (AC) :

$$C_{AC} = \frac{1}{\lambda + \frac{v_{AC}}{V_{AC}}} \times \frac{v_{AC}}{V_{AC}} \times \frac{k_i v_{DC}}{v_{AC}} C_{DC} \qquad (\because R = 0, \ i = A, B, \dots, F)$$
(4)

*ki*は減衰容器からグループ*i*の飼育ケージへ供給される空気の分配比(通常はラドン源から供給 される空気の分配比に等しい)を示している。例えば,k=1の場合は,ラドン源から供給される 空気が希釈されず,そのまま曝露に供されることを意味する。 ここで、減衰容器によるトロンの除去機能について説明する。ラドン源が天然土壌のため、同 位体であるトロンも混在する。トロンは半減期が短いため(55.6 秒)、式(1)のように容器内 の一様な濃度は仮定できない。したがって、飼育ケージに供給される空気中のトロン濃度は、減 衰容器を換気量で除した滞留時間に依存することになる。例えば、換気回数を毎時 5 回以下とし た場合、残留するトロンは初期濃度の約 1/10,000 となる。仮にラドンの 10 倍以上のトロンが線 源から供給されても、トロンの影響は 1/1,000 以下となり、十分機能する設計となっている。

これまで、曝露装置内におけるラドン濃度の変化、およびトロンの除去を概説したが、一方で、 ラドン子孫核種の変化はずっと複雑である。すなわち、希ガスのラドンと違い、換気回数に加え て静電気・エアロゾル濃度・ケージ内の物体の配置などの影響を受ける。本研究ではラドン自体 の曝露に着目するため、子孫核種は可能な限り除去するのが良い。まず、曝露装置内にフィルタ ーを設置することで、飼育ケージに導入される空気からラドン子孫核種は除去している。なお、 飼育ケージ内の子孫核種の生成・壊変は次式で表される。

$$\frac{\mathrm{d}C_{\mathrm{progeny}}}{\mathrm{d}t} = \lambda_{\mathrm{progeny}}C_{\mathrm{parent}} - \lambda_{\mathrm{progeny}}C_{\mathrm{progeny}} - \frac{\nu_{\mathrm{AC}}C_{\mathrm{progeny}}}{V_{\mathrm{AC}}}$$
(5)

ここで、添字は parent が親核種、progeny は子孫核種に関連する量であることを示す。換気回数 が毎時 10 回の場合、ラドン濃度に対する子孫核種の比は、²²²Rn:²¹⁸Po:²¹⁴Pb:²¹⁴Bi:²¹⁴Po=1: 0.58:0.077:0.013:0.013 となる(平衡等価ラドン濃度、または平衡係数(=平衡等価ラドン 濃度/ラドン濃度)は 0.1)。これらの値は、ケージ内の物質表面への沈着による損失が無い場合 の最大値として計算された結果である。一方、ラドン曝露中に実測定したところ、ケージ内の平衡 係数は 0.005 程度であることを確認しており、計算による最大値 0.1 と比べて 2 桁低かった⁴⁹⁾。 この実測結果は、本曝露による生体影響への寄与はラドン自身の吸入によるものであり、ラドン 子孫核種の吸入による寄与は十分に低いことを示唆する。

最後に、本研究で行った吸入曝露試験中のラドン濃度を示す。ラドン濃度は 1,000 Bq/m³, 10,000 Bq/m³、100,000 Bq/m³を計画しており、このうち最高濃度 100,000 Bq/m³を実現するため に閉鎖系での曝露を考えた。実際、閉鎖系において、これより高い濃度での曝露実績は有していた⁵⁰⁾。しかし、この曝露仕様がマウスへ及ぼす生理的影響の可能性、すなわち臓器や組織の生 化学分析への影響が考えられたため、通常行っている開放系で曝露試験を実施した。ラドン濃度 は、当初の予定通り、バックグラウンドレベル、1,000 Bq/m³、10,000 Bq/m³を得たが、最高濃度 は 100,000 Bq/m³に達しないことがわかった。バックグラウンドのラドンの一因には屋外からの 侵入等が考えられ、空調(換気)設備の運転による有意な低減効果を確認しているが、これ以上 の低減の実現は難しい。また、屋外ラドンに起因することから、濃度変動を抑えることも難しい。 ー方、ラドン濃度 1,000 Bq/m³や 10,000 Bq/m³における曝露濃度はほぼ一定であることがわかり、 相対標準偏差は 5%前後であった。

3.1.1.3 ラドン吸入

8週齢・雄のBALB/c系マウスを材料とし、馴致期間1日の予備飼育の後に実験に供した。実験期間中,各マウスは明暗期各12時間(午前8時点灯,午後8時消灯)の光サイクルの環境条件

下とした。また, 固形餌料 MF と水道水は自由摂取とした。なお, 本研究は岡山大学動物実験委員会の承認を得て実施した。

マウスの群分けはランダムに行い,新鮮空気(バックグラウンドレベルのラドンを含む Sham (対照)), ラドン1,000 Bq/m³または10,000 Bq/m³を1日吸入させた。また,1群を7匹とし た。吸入終了直後に炭酸ガスの過剰吸入により安楽死させ,脳,肺,心臓,肝臓,すい臓,胃, 腎臓,小腸,大腸,血液を採取した。血液は,メタボローム解析(後述)に使用した。これらの 試料は-80℃にて凍結保存した。

3.1.1.4 分析方法

LPO 量の測定は、摘出臓器を 10 mM リン酸緩衝液 (PBS) (pH 7.4)にホモジネート1 mL に対し 10 μ L のアセトニトリルと 0.5 M の 2,6-ジーt-ブチル-p-クレゾールを加えてホモジナイズ、 15,000 × g, 10 分、4 °C で遠心分離し、上清を BIOXYTECH LPO-586 Assay Kit (Oxis International, Inc., USA)を用い分析した。すなわち、不飽和脂肪酸の過酸化により生じるマ ロンジアルデヒドを比色定量することで求めた。吸光度は、マイクロプレートリーダー (Viento XS, DS Pharma Biomedical, Japan)を用い、586 nm の波長により測定した。同様に、既知濃度の 標準物質の吸光度を測定し、横軸を標準物質の量、縦軸を吸光度とした検量線を作成した。各組 織の LPO 量はこの検量線を用いて求めた。さらに、単位タンパク質当たりの LPO 量を算出した。

SOD 活性の分析は、各組織の 9 倍量の 10 mM の PBS 試薬を加えホモジナイズし、遠心分離(4℃, 12,000×g,45分)した上澄み液として調製した。測定は、SOD Assay Kit - WST (同仁化学研究所、熊本)を用い、ニトロブルーテトラゾリウム還元法により行った⁵¹⁾。キサンチンオキシダーゼ(XOD)によって生成された 0²はテトラゾリウム塩と反応し高水溶性ホルマザンを生成するが、SOD は 0²の不均化反応を触媒する酵素であるため、SOD の存在下では 0²濃度が低下し、高水溶性ホルマザンの生成を阻害する。この阻害率は、マイクロプレートリーダーを用い、450 nm の波長により吸光度を測定した。同様に、既知濃度の SOD 標準物質の吸光度を測定し、横軸を SOD 活性,縦軸を吸光度とした検量線を作成した。各組織の SOD 活性はこの検量線を用いて求めた。このキットによる1 U は、高水溶性ホルマザンの生成を 50%阻害する時の SOD 活性として定義した。さらに、単位タンパク質当たりの SOD 活性を算出した。

CAT 活性の測定は、各組織の9倍量の10 mMのPBS 試薬を加えホモジナイズし、遠心分離(4℃, 10,000×g,15分)した上澄み液として調製した。測定は、Catalase Assay Kit (Cayman Chemical, USA)を用い、ペルオキシダーゼ活性を用いてカタラーゼ活性を測定した。この方法 は、適量のH₂O₂の存在下でカタラーゼとメタノールとの反応に基づいている。1 U は、25℃で1 分間当たり1.0 nmol のホルムアルデヒドの生成に寄与した酵素の量として定義される。吸光度 は、マイクロプレートリーダーを用い、540 nm の波長で測定した。同様に、既知濃度のホルムア ルデヒドの吸光度を測定し、横軸をホルムアルデヒド、縦軸を吸光度とした検量線を作成した。 各組織のホルムアルデヒド量はこの検量線を用いて求めた。さらに、単位タンパク質当たりの CAT 活性を算出した。

t-GSH 量は、各組織の9倍量の10 mMのPBS 試薬を加えホモジナイズした後に、そのホモジネートを30 μ Lにトリクロロ酢酸60 μ L加え、遠心分離(4℃, 12,000×g, 10分)し、その上澄み液中のt-GSH量を、BIOXYTECH GSH-420 Assay Kit (Oxis International, Inc., USA)を用い

分析した。すなわち,上澄み液中の酸化型グルタチオン(GSSG)を還元型GSHに還元した後に, 4-chloro-1-methyl-7-trifluoromethylquinolinium methylsulfateを添加することで上澄み液中 の全てのチオール基と反応してチオエーテルを生成させた。その後,pHを13より大きくするこ とでβ脱離し,色素体のチオンが生成される。マイクロプレートリーダーによる420 nmの波長 により得られた吸光度は,t-GSH量に正比例することを利用して測定した。同様に,既知濃度の GSH標準物質の吸光度を測定し,横軸をGSH量,縦軸を吸光度とした検量線を作成した。各組織 のt-GSH量はこの検量線を用いて求めた。さらに,単位タンパク質当たりのt-GSH量を算出した。

タンパク量は、各分析の上澄み液を用いて測定した。ただし、t-GSH 量の場合は、SOD と同じ 上澄み液からタンパク量を測定した。タンパク量の測定は、Protein Quantification Kit-Rapid (同仁化学研究所、熊本)を用い、Bradford 法より行った⁵²⁾。Coomassie Brilliant Blue G は タンパク質に作用し、酸性条件で青色に呈色することを利用した。これを、マイクロプレートリ ーダーを用い 600 nm の波長により得られた吸光度からタンパク量を測定した。同様に、既知濃 度のタンパク標準物質の吸光度を測定し、横軸をタンパク量、縦軸を吸光度とした検量線を作成 した。各組織のタンパク量はこの検量線を用いて求めた。

3.1.1.5 統計処理

多重比較のためにテューキーの検定を用いた。P値は P<0.05の際に有意差ありとした。

3.1.1.6 結果と考察

生体内で生成される過酸化脂質 LOOH の基質は主として, 膜リン脂質の二重結合を 2 個以上有 する多価不飽和脂肪酸であり,酸化ストレスの指標として用いられている。例えば,糖尿病患者 と健常者の血漿 LPO 量を測定した結果,糖尿病患者の血漿過 LPO 量は健常者のそれより有意に高 値を示したことが報告されている ⁵³⁾。他方,虚血-再灌流誘導胃粘膜障害の成因としてフリーラ ジカルおよび脂質過酸化の関与が強く示唆されており ⁵⁴⁾,酸化ストレスを評価する上で重要な指 標となりうる。また,鉄イオン,紫外線・放射線などにより脂質の過酸化は一層促進されること なども報告されている ⁵⁵⁾。しかし,低線量放射線照射の場合,ラット諸臓器中の LPO 量を減少す るなどの報告もあり ¹⁾,放射線の線量により酸化ストレスの程度が異なる。例えば,放射線によ る酸化ストレスにより,抗酸化酵素である Mn-SOD が誘導合成されることが報告されている ⁵⁶⁾。 このように,生体は少量酸化ストレスに対する防御機能を持っていると考えられる。

本研究では、ラドン吸入による酸化ストレスの評価のため、マウスの脳、肺、心臓、肝臓、すい臓、胃、腎臓、小腸、大腸のLP0量について検討した。その結果、1,000 Bq/m³と10,000 Bq/m³ のラドン吸入により肝臓中の、1,000 Bq/m³のラドン吸入により心臓中のLP0量が有意に減少し たことから、ラドン吸入は酸化ストレスを軽減することが示唆できた。他方、10,000 Bq/m³のラ ドンを吸入した場合、肺中のLP0量が有意に増加したことから、高濃度のラドン吸入は肺に酸化 ストレスを誘導することが示唆できた。これは、ラドンが気体であり、呼吸を介して体内に取り 込まれるためと考えられた。他の臓器では、LP0量が有意に増加した臓器はないことから、本実 験条件でのラドン吸入は酸化ストレスを誘導しないことも示唆できた。

上述のごとく,酸化ストレスにより LPO 量が増加するが,生体には酸化ストレスに対する防御 機能が備わっている。酸化ストレスは活性酸素種やフリーラジカルにより生じることはよく知ら れている。例えば, SOD は活性中心となる金属により Cu/Zn-SOD, Fe-SOD, Mn-SOD のアイソザイ ムがある。また, Cu/Zn-SOD は細胞質に, Mn-SOD はミトコンドリアに多く局在している。SOD は 0⁻を H₂0²に不均化する酵素である。H₂0²は不対電子を持たない活性酸素種であり、GPx やカタラ ーゼにより不均化されるが、フェントン反応により反応性の高いヒドロキシルラジカル(OH-) 生成されることから、H2O2の消去酵素の役割が重要であると考えられる。GSH はチオール基を持 つため、それ自身が活性酸素種を還元的に消去する働きを持ち、GPx は GSH を利用して過酸化水 素や脂質ヒドロペルオキシドを還元する酵素である。本実験では、各臓器中の SOD 活性、CAT 活 性, t-GSH 量などの抗酸化酵素・物質について分析した。その結果, 肝臓中の SOD 活性は 1,000 Bq/m³のラドン吸入により有意に減少したことから、H₂O₂の産生が減少したと考えられた。他方、 肝臓中の t-GSH 量は 10,000 Bq/m³のラドン吸入により有意に減少したことから, H₂O₂などの不均 化反応により消費されたと考えられた。結果として、活性酸素種による障害を予防したと考えら れた。他方, 1,000 Bq/m³のラドン吸入により心臓中の t-GSH 量が有意に増加したことから, H2O2 の除去能力が高まったものと考えられた。他方、カタラーゼ活性はいずれの臓器でも有意な変化 がなかった。その他、今回測定していないチオレドキシンなどの抗酸化機能関連物質もあり、肺 を除き、ラドン吸入はトータルとして酸化ストレスを誘導しない、または軽減することが示唆で きた。また,肺中 LPO 量は 10,000 Bq/m³のラドン吸入により有意に増加したことから,ラドン吸 入により生じた ROS を消去しきれなかった、すなわち、生体内に備わっている抗酸化系で消去し きれない ROS が産生されたものと考えられた。これより、ラドンの吸入による影響は肺が受けや すく、その他は肺よりも受けにくいことが示唆できた。ラドン吸入によるこれら抗酸化機能関連 物質の増加の機構として、例えば、ラドン吸入による酸化ストレスを介して Mn-SOD が合成され ることについても明らかにしてきたが46,その他酵素・物質の増加の機構についての報告がな いため、今後の研究が期待される。

3.1.1.7 まとめ

本実験では、α核種の吸入による内部被ばくの横断的生体影響のため、α核種でかつ過去の知 見の多いラドンをマウスに吸入させ、酸化ストレスに着目し、生体影響について評価した。すな わち、1,000 Bq/m³または 10,000 Bq/m³を1日吸入させた結果、ラドン吸入により肝臓中と心臓 中の LP0 量が有意に減少したことから、ラドン吸入は酸化ストレスを軽減することが示唆できた。 他方、高濃度のラドンを吸入した場合、肺中の LP0 量が有意に増加したことから、酸化ストレス を誘導することが示唆できた。これは、ラドンが気体であり、呼吸を介して体内に取り込まれる ためと考えられた。また、ラドン吸入による酸化ストレスの軽減には、抗酸化酵素・物質が関与 している可能性も示唆できた。

なお,DNA 損傷等の解析にあたっては、当初の見込み以上に前処理工程が必要であることがわ かった。このため、前処理工程を含めた平成 31 年度の実験計画を作成した。

3.1.2 文献調査

3.1.2.1 はじめに

プルトニウムのようなα核種を体内に取り込んだ場合の体内での挙動と、ラドンの体内での挙 動について文献調査をし、それらの違いと子孫核種も含めたラドンをα線源とした場合のα線の 内部被ばくのモデルの正当性について調査した。以下、調査した文献について紹介する。

3.1.2.2 文献調査

3.1.2.2.1 プルトニウムの体内動態 57)

超ウラン元素の体内摂取経路の1つに吸入があり,内部被ばくを考慮する上で重要な摂取経路 である。この論文の著者らは,呼吸により沈着した粒子状超ウラン元素より呼吸器ならびに身体 各部が受ける線量を計算し,その影響を評価するために必要な気道内粒子代謝モデル策定に必要 なデータを得るために,粒子状物質の気道内沈着,沈着した粒子の肺での挙動,肺から全身への 移行について検討してきた。また,胎児へのプルトニウムの移行に関してはあまり報告がなく, 不明な点も多いことから,胎児移行に関する検討も行ってきた。本論文では,酸化プルトニウム の体内動態,そのモデルとなる各種の難溶性放射性粒子の呼吸気道内での挙動や代謝,プルトニ ウムの胎児移行について紹介されている。

吸入され上部呼吸気道に沈着した粒子状物質が,粘液繊毛運動によって上行性に除去されず, 気道内に長く滞留したことが報告され,沈着部位で発ガンが認められたことから,BaSO4粒子を 難溶性粒子のモデルとして用い,上部気道における滞留,リンパ系への移行に関する検討を行っ た。

その結果, ラットにおいては, 1 週または 24 週後にそれぞれ, 投与量の約 1%, 0.5%程度が沈着していることがわかった。同様に, ウサギ, 犬, サルでも不溶性粒子の上部気道壁への長期的 滞留が認められ, ¹³³BaS0₄以外の不溶性粒子でも認められた。

⁵⁹Fe ーコロイドおよび ²³⁹Pu 一重合体コロイドの肺マクロファージによる可溶化,細胞外放出の 時間依存性について検討した結果,²³⁹Pu の細胞外放出量は,経過時間に比例して増加したが, ⁵⁹Fe ではほぼ一定であった。肺マクロファージによる粒子の細胞内溶解,細胞外放出の経時変化 が粒子の種類により異なることがわかった。これは,粒子自身の溶解性の違いによるものと考え られたため,溶解性の異なる 2 種類の水酸化鉄コロイドの細胞外放出率について検討した。すな わち,10 kDa 以下の粒子を約 50%含む比較的溶解性の高い水酸化鉄コロイド(コロイド1)と大部 分が 10 kDa 以上の粒子からなる難溶性の水酸化鉄コロイド(コロイド2)の細胞外放出率には約 5 倍の違いが認められた。

一般に、溶解性の高いプルトニウムは肺から他の臓器へ移行しやすく、体外への排泄もされや すい。焼結温度により酸化プルトニウムの物理化学的性状は異なると考えられ、ビーグル犬では 低温で焼結させた酸化プルトニウムは速やかに肺から他臓器へ移行するが、マウスでは焼結温度 が肺沈着後の他臓器への移行に影響しないことなども報告されている。そこで著者らは、高温 (1,150℃)と低温(400℃)で焼結させた2種類の酸化プルトニウムをラットに吸入後、肺に沈着し たプルトニウム量を体外計測により求めた。その結果、低温焼結の方が肺から他臓器への移行が 速いことがわかった。一方、体外へのプルトニウムの排泄率は肺からの移行が速い低温焼結酸化 プルトニウム吸入ラットの方が高かった。 また、プルトニウムの胎児移行について検討した。プルトニウム投与後の母体と胎膜・胎児への分布が妊娠期間中にどのように変化するかを調べたところ、クエン酸プルトニウム投与 24 時間後の受胎産物中のプルトニウムは妊娠後期で高く、10.5 日齢で投与量のわずか 0.12%であったのが、16.5 日齢では 10 倍の 1.3%に増加した。妊娠期間全般にわたり受胎産物のプルトニウムの 90%は卵黄嚢と脱落膜に存在し、妊娠前期から後期へ移行するにしたがって受胎産物中のプルトニウム濃度は増加するため妊娠後期の卵黄嚢の平均線量は母体の肝より高くなった。

3.1.2.2.2 プルトニウムの吸入投与実験⁵⁸⁾

放射線医学総合研究所のプルトニウム動物実験施設のプルトニウムエアロゾル吸入実験装置は、 エアロゾル発生部・加熱酸化部・濃度調整部・吸入チャンパー部・廃棄処理部で構成されている。 酸化プルトニウムエアロゾルの生成は、発生原液を定量ポンプで供給し、これを圧縮空気による 霧吹き方式でミスト化するものである。発生するエアロゾルの粒径は、発生原液の溶質重量濃度 の 1/3 乗に比例することを利用して制御することができるが、その感度はあまりよくないため粒 子径の調整は事実上不可能である。加熱酸化は 2 段階の加熱により、安定した酸化物粒子を生成 できている。プルトニウムエアロゾルを空気中放射能濃度は、吸入チャンバーからのエアサンプ リングにより求め、1 Bq/cm³ であることがわかった。空気力学的放射能中央径 (AMAD) =0.3~ 0.5 μ m、幾何標準偏差 (GSD) =2.0 の多分散エアロゾルが中心で、走査型電子顕微鏡での観察 で、直径 0.1~0.2 μ m の球形の粒子像が確認されている。

このプルトニウムエアロゾル吸入実験装置を用いたラットの Pu エアロゾル吸入による Pu の肺 への沈着が調べられている。Pu エアロゾルの大きさを AMAD=0.48 μ m, GSD=2.0で, 0.96 Bq/m³ の空気中濃度で 1 時間の鼻部暴露させたとき,各肺葉の初期沈着量を調べており,左葉で平均 1,627 Bq/lung-g,右前葉で平均 2,224 Bq/lung-g,右中葉で平均 1,839 Bq/lung-g,右後葉で平 均 1,779 Bq/lung-g,副葉で平均 2,238 Bq/lung-gと肺分葉ごとのマクロな分布においてプルト ニウムは均一に沈着していたことが報告された。

3.1.2.2.3 アルファ放射体内部被ばく生物影響研究 — プルトニウム発がん実験を中心に—⁵⁹⁾

本報告では、Wistar 系雌ラットの酸化プルトニウムエアロゾル吸入暴露による肺腫瘍に関して 報告された。まず、不溶性の多分散²³⁹Pu0₂ エアロゾル (AMAD:0.3~0.5 µm, GSD:1.8~2.1) を鼻部吸入暴露して、生涯飼育し、肺腫瘍発生率を検討した。その結果、対照群では、原発肺腫 瘍の発生率は約 2%であるのに対し、平均肺吸収線量が1 Gy 以下の吸入群で良性肺腫瘍が 35%ま で増加した。ただし、平均生存日数に差はなかった。また、1 Gy を超えると、悪性肺腫瘍が急増 し、6~7 Gy で最高 97%となる線量効果関係が見られ、平均生存日数が減少した。さらに、肺腫 瘍の大部分は、上皮性の腺腫、腺癌、腺扁平上皮癌、扁平上皮癌であったが、異なる線量効果関 係が見られた。これらについて、粒子径差による発がん効果の比較検討が必要と言われている。

可溶性 Pu 注射投与マウスにおける発がんについても報告されており、C3H 雌マウスに、硝酸塩 から変換した可溶性の²³⁹Pu クエン酸塩を 10~10,000 Bq 注射投与し、生涯飼育による腫瘍発生率 と骨線量に基づく線量効果を検討した。骨線量 3 Gy 以上から、対照群と比較して平均生存日数 の有意な減少と早期の腫瘍死および非腫瘍死が認められた。骨肉腫、リンパ性腫瘍、肺、肝、卵 巣等軟組織の固形腫瘍が観察され、骨髄性白血病などの血液腫瘍は全く見られなかった。骨腫瘍 が1 Gy 以上で急増し、10 Gy 以上で減少するのに対し、リンパ性腫瘍は 1~8 Gy で減少し、10 Gy 以上で急増した。その他の腫瘍は、1 Gy 以上で減少し、10 Gy 以上では認められなかったこと から、発生腫瘍間での競合が示唆さた。また、リンパ性腫瘍について、対照群より早期に発生し、対照群・ γ 線・X 線・中性子線被ばくで見られる胸腺(T 細胞)リンパ腫がほとんど見られない 等の違いが示唆された。 α 線特異的な発がん機構を明らかにすることがきわめて重要であると考 えられた。

3.1.2.2.4 プルトニウムの吸入被ばくによる発がん等生物影響 —動物実験でどこまで明らか にされたか—⁶⁰

本報告では、吸入被ばくによる肺がん等生物影響に関する動物実験の知見が報告された。

2012年にNielsenらが報告した論文では,硝酸Pu (²³⁹Pu(NO₃)₄)の微粒子を吸入暴露したビー グル犬の肺組織とアメリカの超ウラン元素国家登録に登録された硝酸プルトニウム事故被ばく症 例の肺組織とを比較解析し,これまで不溶性の酸化物 (²³⁹PuO₂)の特徴と考えられていた沈着と 分布パターンが可溶性の硝酸塩でも認められたことを示した。また,同年,Parkらが報告した論 文では,酸化 Pu (²³⁹PuO₂)を吸入暴露したビーグル犬で,非腫瘍性病変はいずれも国際放射線防 護委員会やアメリカ放射線防護評議会が提唱している確定的影響に相当すると結論付け,それら が起こる必要初期沈着量と吸収線量の推定値を提示し,Pu酸化物の吸入被ばくによる影響のリス クとその機構について検討した。

さらに、プルトニウム吸入被ばくによる生物影響を化合物の溶解度と同位体の差,および,粒 子径の差については、以下のようにまとめられた。

<化合物の溶解度と同位体の差>

1 溶解度が高い硝酸塩 (²³⁹Pu(NO₃)₄)

肺にほぼ均等に分布し、速やかに血液移行して、肝臓等に沈着し、肺腫瘍のみならず、肝腫 瘍等も誘発するため、生涯リスクは高い。

2 溶解度が低い酸化物 (²³⁹PuO₂)

肺に長期にわたって滞留,凝集して,不均等に分布し,一部は気管支リンパ節へ移行・沈着 するが,肝臓等への移行率は低く,肺腫瘍のみが発生する。

3 溶解度が低いが半減期が短く高線量率で反跳原子効果の強い酸化物(²³⁸PuO₂) 自己分解により粒子サイズが小さくなり、血液を介して、肝臓や骨に移行するため、肝臓や 骨の腫瘍が発生しやすい。

<粒子径の差>

4 AMAD が 3 µm 以上

鼻や咽喉頭部から気管支の分岐に至る上気道に沈着する割合が高い。

- 5 AMAD が 1.5 μm 程度 気管支枝から細気管支に至る下気道に沈着する割合が高い。
- 6 AMAD が 0.75~1.0 μm 以下

深部の肺胞に沈着する割合が高い。

このように、Puの生物影響について研究は進められているが、体内での代謝パラメータの妥当 性、動物種・性別・年齢などの個体差、非腫瘍性病変と発がんとの関係、線量評価法の検討など、 未だに多くの課題が残っている。

3.1.2.2.5 生物学的安全性評価研究におけるプルトニウムの線量評価⁶¹⁾

プルトニウム投与動物の線量の評価のため,動物用のプルトニウム体外計測装置の試作,初期 沈着放射能および肺残留率の測定, α線オートラジオグラフィなどが開発され,肺に沈着したプ ルトニウム粒子の周りの細胞のα粒子によるヒット数分布や,α核種を投与した実験動物の細胞 等に生じた細胞遺伝学的変異等の評価についても検討されてきた。本稿では,プルトニウム吸入 動物における線量評価および肺深部に沈着した粒子状プルトニウムによる細胞レベルの線量評価 について報告された。

本研究では、試作された小型動物用体外計測装置が紹介された。すなわち、この装置を用い、 動物体外へ透過してくる低エネルギーX線(LX線)を検出した。ラットの場合、計測時間は1,000 秒とし、麻酔保定、運搬等も含め1匹当たり約25分かかった。なお、LX線の計数効率は体重の 増加に伴い著しく減少するため、体外計測装置の校正係数は個体ごとに異なる値をとった。

同一個体の肺内プルトニウムを体外計測法により長期間追跡することによって Pu の肺残留率 を求めた。その結果,初期沈着放射能の77%が半減期53日で,残りの23%は半減期794日でクリ アランスされ,また,残留率は沈着量に依存しないこともがわかった。

PuO₂の中で生成した²⁴¹Am の挙動を検討するため,²⁴¹Am を 4%含む PuO₂をラットに吸入し,²⁴¹Am と Pu ともに体外計測法で長期間追跡し,これら両元素の肺における挙動が調べた。その結果, Am/Pu 比が長期間変わらないことがわかった。つまり、人体のように LX 線の吸収を受けやすくプルトニウムの肺計測が困難な場合でも、測定の容易な²⁴¹Am をトレーサーとすることにより、Pu の肺負荷量を推定できる可能性が示唆できた。

α粒子によるヒット数の分布は障害の発生確率の指標として重要な意味を持つと考え,実験動物の肺の組織切片標本の2値化画像と画像情報処理技術とによって肺深部のバーチャルな立体構造を構築し,これを用いてヒット数の分布等線量評価に関わる種々統計量を求めた。肺に沈着した²³⁹Puから放出されるα粒子の飛程は,組織切片画像による計算と均質無構造の肺モデルとでは粒子径依存性が著しく異なり,従来からの均質無構造モデルは実際の被ばくを正しく反映していないこともわかった。

細胞は a 粒子にヒットされると高い確率で死ぬが、ヒットされてもなお生き残る細胞が障害の 発生に深く関わっており、その細胞個々の悪性化への可能性はヒットの回数に比例すると仮定し た。例えば、1 ヒット当たりの致死率を 2/3 と仮定した場合、粒子径が大きいほどリスクが小さ くなることがわかった。

放射性物質の生物学的安全性評価は、モデルにより評価された線量を用いてリスク評価される が、生物学的研究で得られた結果が線量評価に生かされる必要があり、Puの生物学的安全性評価 の研究の成果が線量評価に反映されることが望まれる。

3.1.2.2.6 プルトニウム影響のリスク低減化に関する研究⁶²⁾

プルトニウム摂取による影響リスクの低減化に関する研究は,動物実験で得られたプルトニウ ムの体内挙動および影響を人へ適用できるようにすることが望まれる。このため,国内で初めて のプルトニウムの生物影響研究を目的とした内部被ばく実験棟の設計・建設,実験が遂行された。 プルトニウムは骨親和性核種であるが、使用するラットおよびビーグル犬の骨代謝の研究に関す る基礎知見は乏しかったことから、まず、これらの動物の骨代謝に関する研究が先行して行われ、 多くの研究成果を得た。

酸化プルトニウムの吸入摂取後の呼吸器系における分布と挙動を検討した結果, ラットに吸入 投与された酸化プルトニウム(焼結温度: 1,150℃, AMAD: 約0.2 μm)は,約20分後には肺マク ロファージに取り込まれ,3日後の組織観察では肺胞表面に不均一に分布し,少量ずつ血液中へ 移行し糞尿中へ排泄された。

ラットに硝酸プルトニウムを静脈注射すると血液中の濃度は急速に減少するが、肝臓や骨では 急速に増加することがわかった。これより、Ca-DTPA などのキレート剤は臓器沈着後のプルトニ ウムに対してはほとんど無効になるため、事故後のキレート療法の開始時期が重要性であること もわかった。ビーグル犬に静脈投与した場合、1 日後では、プルトニウムは糞中よりも尿中へ多 く排泄されるが、2 日以降では、糞中への排泄が多くなることから、短時間で肝臓へ沈着するこ とがわかった。投与 14 日後の臓器中のプルトニウム濃度は、骨と肝臓が最も高く、腎臓、脾臓、 リンパ節、肺、腸管、すい臓の順で高かった。骨では海綿骨皮質骨、骨髄の順に高かった。28 日 後の沈着濃度は 14 日後に比べて海綿骨、肝臓、骨髄で増加し、他の臓器や血液では低下してい たことから、親和性の高い骨や肝臓への再沈着することがわかった。海綿骨表面に沈着したプル トニウムが骨内に埋め込まれる速度を推定するため、人の石灰速度に対するこれらの動物の比を 求めるとラットでは 1.6 倍、イヌでは 1.3 倍、またターンオーバーの割合は人に比べてラットで は 4 倍、イヌでは 2 倍大きいことが推察された。

人の骨量は年齢に依存して変化することから、プルトニウムの沈着量や挙動が年齢によって異 なると考えられる。ラットの骨量は 12 ヵ月齢で最大になることから、3、12 および 24 ヵ月齢の 雌雄ラットに硝酸プルトニウムを静脈投与し、投与 2 および 4 週間後における臓器沈着量の年齢 差を検討した。骨の沈着率は 12 ヵ月齢で最も高く、年齢によって差がみられることがわかった。

次に、外部被ばくと同時にプルトニウムを摂取した場合と、遅れて摂取した場合の相違につい て検討した。その結果、全身 X 線照射 7 日後のプルトニウム沈着量は、骨では減少、軟臓器では 増加したことから、複合被ばくにおける影響評価が極めて困難になることがわかった。

プルトニウム摂取後いかに迅速に体外除去あるいは臓器沈着阻止の処置を行うかが、プルトニ ウムの影響リスクを低減化するのに最も重要である。プルトニウムの除去剤には、Ca-DTPA と Zn-DTPA がある。しかし、日本ではDTPA が医薬品や治験薬として認められいなかったため、人体 投与が問題にならず、かつ簡単に入手できる応急的方法として、プルトニウムの骨沈着阻止を目 的としたカルシウム剤の投与効果について検討した。カルシウム剤をプルトニウム投与直後のラ ットに与えると、骨のプルトニウム初期沈着を防止する効果が認められたことから、実用的な応 急手段となることがわかった。

実験的に高温(1,150℃),低温(300℃)で焼結した酸化物および焼結しないコロイド状の水酸化 物をラットに吸入させ、Ca-DTPAの注射投与とZn-DTPAの経口投与によるキレート療法を30日間 行った結果,除去効果はまったく認められなかった。DTPAの安全性研究に関しては、ラットの経 口投与による慢性毒性試験、ラットとイヌを用いた毒性の比較、犬の経口投与毒性試験が行われ、 その結果、血液中のカルシウム濃度の低下による心機能低下あるいは停止、高血圧症など循環器 系疾患を有する場合にはリスクが高まる可能性があること、長期投与による石灰化阻害などの骨 代謝障害を起すことなどがわかった。

また,粒子状のプルトニウムを体外へ除去する方法として肺洗浄法があるが,ビーグル犬を用いてそのリスクについて検討した。その結果,マクロファージに取り込まれた Pu と遊離性の粒子を除去できる可能性が期待できた。

3.1.2.2.7 プルトニウム動物実験施設の設計と管理経験⁶³⁾

本文献では、放射線医学総合研究所の動物実験を行う核燃料施設の特殊性を中心に施設の設計 及び管理について報告された。この施設で取り扱われる実験動物は、ラット・マウス・ビーグル 犬で、使用する放射性物質は、トレーサーレベルで使用する若干の放射性同位元素と生物影響が 観察できるレベルで吸入投与または注射投与する²³⁹Puの割合が96%以上の核分裂生成物を含まな い純粋なプルトニウムである。動物実験施設でありながら核燃料施設であるための問題点などが 挙げられていた。例えば、プルトニウム投与動物の排泄物処理、プルトニウムエアロゾル(高濃 度汚染空気)の制御、生涯飼育のためのスペース確保、プルトニウム混入飼料(臓器、組織切片 など)のグローブボックス外での取扱いなどである。

以上のことから、本施設では、特徴的な負圧管理システム・排水処理システム・焼却炉を設置 し、以下の3タイプの動物飼育装置を設計した。

1. グローブボックス型飼育装置

プルトニウムを投与した直後,初期排泄物の量は増え,排泄物にはプルトニウムが含まれている。そのため,グローブボックスと同等の密閉性のある箱の中に飼育装置を収め,動物の世話 はグローブボックス越しの作業となる。

2. フード型飼育装置

動物飼育ゲージ前に小窓を設け、グローブボックスのような密閉性はないがフードないで作業 することができる。

3. 開放型飼育装置

通常の動物飼育法で,棚に動物飼育ゲージを並べる。汚染空気の閉じ込めはできないが,省ス ペース化や作業効率化のメリットがある。

プルトニウム投与直後は、最も気密性の高いグローブボックス型飼育装置を用い、投与後1ヵ 月以上を経て、排泄物中のプルトニウム濃度が4 Bq/g-wet以下、動物体表面汚染が4 Bq/cm²以 下、飼育装置内空気汚染レベルが1×10⁻⁹ Bq/cm³以下となると、フード型飼育装置へ動物を移動 させる。排泄物中のプルトニウムについては、実験的に、1~2週間でプルトニウムの排泄はほぼ 完了し、検出されなくなることを確認した。初期代謝の時期を過ぎるときわめて排泄されにくく なると報告された。

定期的な環境モニタリングや施設内モニタリング(空気中放射能,空間線量当量率,表面汚染) 等の放射線管理を行い,安全を十分に確保した上で,動物実験施設としても核燃料施設としても 機能を果たす施設の設計が行われていることがわかった。

3.1.2.2.8 まとめ

平成 30 年度では、ラドンを代表としたα核種の吸入による影響をマイクロドジメトリ、組織 レベル、生体レベルでの観点から検討したが、その影響とプルトニウムの内部被ばくの影響との 違いを明らかにするためにプルトニウムの体内動態、吸入投与実験、発がん実験、線量評価、リ スク低減化などに関する文献調査を実施した。その結果、低温焼結(400℃)の方が肺から他臓器 への移行や排泄率が高いこと、クエン酸プルトニウム投与 24 時間後の受胎産物中のプルトニウ ムは妊娠後期で高く、妊娠後期の卵黄嚢の平均線量は母体の肝より高くなることがわかった。プ ルトニウムエアロゾル吸入により、肺分葉ごとのマクロな分布で均一に沈着するが、化合物の溶 解度と同位体の差や粒子径により分布する臓器や沈着部位が異なることもわかった。これらプル トニウムは、初期沈着放射能の 77%が半減期 53 日で、残りの 23%は半減期 794 日でクリアランス され、また、測定の容易な ²⁴¹Am をトレーサーとすることにより、プルトニウムの肺負荷量を推 定できることなどもわかった。酸化プルトニウムエアロゾル吸入暴露による肺腫瘍に関して平均 肺吸収線量が1 Gy 以下の吸入群で良性肺腫瘍が 35%まで増加、1 Gy を超えると悪性肺腫瘍が急 増、6~7 Gy で最高 97%となる線量効果関係が見られたことや、プルトニウム摂取後の迅速な体 外除去や臓器沈着阻止の検討もされていることもわかった。

ラドンは化学的に安定した原子であることから、プルトニウムと異なる挙動を示すことから、 ラドンの特性についても文献調査し、プルトニウムとの違いを明確にする必要がある。

3.1.3 ラドン曝露後の活性酸素種産生の解析

3.1.3.1 はじめに

化学的生体防御機構には、生体内に生じた過剰な ROS を消去する機構がある。その機構の一つ に、ROS である 0²を消去する SOD、同じく ROS である H₂0²を消去する CAT、H₂0²や脂質ヒドロペ ルオキシドを消去する GPx などがある。また、GSH はチオール基を持つため、それ自身が ROS を 還元的に消去する働きを持つ。

水の放射線分解により種々の ROS が産生される。放射線エネルギー100 eV の吸収当たりの生成 化学種の個数(G 値)は放射線の種類によって変化することが報告されている⁶⁴⁾。例えば,LET の大きい場合,H₂やH₂O₂などの分子状収率が増加し,OH ラジカルなどの収率が減少している。し たがって,低LET と高LET では生体内での酸化ストレス状態が異なることが考えられ、α核種の 吸入による内部被ばくの生体影響は、X 線や γ 線で得られた放射線の生体影響からは推定できな いと考えられる。また、生体内での ROS の寿命は非常に短いため⁶⁵⁾、直接測定することは難し い。H₂O₂は他の ROS とは異なり、非常に安定していることが報告されている⁶⁶⁾。したがって、本 研究課題では、ラドン吸入後の各組織のH₂O₂の産生量を測定することは、各組織の酸化ストレス 状態を知る上で重要な知見となり得る。

H₂0₂ は ROS であると同時に,生体内ではシグナル伝達物質としての役割ももつ。例えば,H₂0₂ はタンパク質チロシンボスファターゼを可逆的に阻害すること,脂肪細胞に対してグルコースの 取込みを促進するなどインスリン類似作用があることなどが報告されており⁶⁷⁾,生体内では重 要な役割を果たしていると考えられる。また,低濃度のH₂0₂に対しては GPx が,高濃度のH₂0₂に 対しては CAT により消去されると報告されている⁶⁸⁾。さらに,SOD,GSH,GPx,CAT の ROS 消去 に関する作用は,その環境に応じて役割を分担していると考えられている⁶⁹⁾。高圧酸素下,ビ タミン E 欠乏動物の肝や肺で生成した H₂0₂のほとんどは GSH,GPx によって消去され⁷⁰⁾,キサン チンーキサンチンオキシダーゼ系で 0₂⁻を発生させたラット肺に SOD を投与すると急性肺障害や 浮腫は抑制されるが,CAT では効果がないことなどが報告されている⁸¹⁾。

ラドンは肺のガス交換で全身に運ばれ、その際の各臓器の吸収線量などについても報告してき た⁸²⁾。したがって、ラドン吸入後の各臓器のH₂02量を測定することは、ラドン吸入による各組織 の酸化ストレス状態を知る指標となりうる。本研究では、ラドン吸入後の各組織中のH₂02量を分 析し、抗酸化機能関連物質の結果と比較することで、α核種を吸入した場合の生体内での酸化ス トレス状態を評価した。

3.1.3.2 ラドン吸入

実験動物およびラドン吸入方法は3.1.1.3と同様であるため、省略する。

3.1.3.3 分析方法

H₂0₂の分析には、各組織の9倍量の10 mMのPBS 試薬を加えホモジナイズし、遠心分離(4℃, 10,000×g,5分)した上澄み液を供した。測定は 0xiSelect[™] Hydrogen Peroxide/Peroxidase Assay Kit (cell Biolabs, Inc., USA)を用いた。本キットに含まれるプローブはH₂O₂ と反応し、 ピンク色の物質を産生する。マイクロプレートリーダーによる 560 nm の波長により得られた吸 光度は、H₂O₂ 量に正比例することを利用して測定した。同様に、既知濃度の H₂O₂ の吸光度を測定 し、横軸を H₂O₂ 濃度、縦軸を吸光度とした検量線を作成した。各組織の H₂O₂ 量はこの検量線を用いて求めた。

3.1.3.4 統計処理

統計処理の方法は3.1.1.5と同様であるため、省略する。

3.1.3.5 結果と考察

本実験では、α核種の吸入による内部被ばくの横断的生体影響のため、ラドン吸入後の各臓器 中の H₂02 量を分析した。その結果,いずれの臓器も H₂02 量の変化に統計学的有意な差はないこと がわかった。しかし、ラドン吸入後の H₂O₂ 量の変化から、最大 50%程度変動することがわかった。 特に,大腸はラドン吸入により H2O2 量が減少しやすい可能性が示唆できた。しかし,大腸の CAT 活性や t-GSH 量に変化のないことから、ラドンにより生じた H2O2 が不均化されたものではないと 推察できた。ラドンを吸入しない場合も H2O2 が生体内に存在することから、生体内での産生が減 少した可能性が考えられた。他方,肺中のH2O2量は10,000 Bq/m³のラドン吸入により20%増加し た。10,000 Bq/m³のラドン吸入により,肺中のLP0 量は有意に増加したことから,ラドン吸入に より生じた H₂O₂ が肺への酸化ストレスに寄与している可能性が示唆できた。肝臓中の H₂O₂ 量も 1,000 Bq/m³のラドン吸入により約 20%程度増加したが、LPO 量は減少し、肺とは異なる結果が得 られた。肝臓と肺中の H202 量を比較すると肝臓の方が約8倍多く, CAT 活性を比較すると肝臓の 方が約 4 倍高かったことが関与していると考えられた。また, 1,000 Bq/m³のラドン吸入により 心臓中の LP0 量が減少し、t-GSH が増加したが、H202 量は約 20%減少した。心臓の場合、t-GSH に より H202 が消去されたことで酸化ストレスが軽減した可能性が示唆できた。その他の臓器につい ては,H202 の産生量と抗酸化機能関連物質に特長的な変化はなかった。本実験では,脳中の H202 量が検出できなかった。次年度以降、検出できるようサンプル濃度に調整し、再度分析する必要 がある。

3.1.3.6 まとめ

本実験では、 α 核種の吸入による内部被ばくの横断的生体影響のため、 α 核種でかつ過去の知 見の多いラドンをマウスに吸入させ、 α 線照射後の H₂O₂の産生量について検討した。すなわち、 1,000 Bq/m³または 10,000 Bq/m³を1日吸入させた結果、肝臓と肺中の H₂O₂量が約 20%増加する ことがわかった。その結果、肺中 LPO 量が増加したが、肝臓中 LPO 量は増加しなかった。これは、 肺、肝臓中の H₂O₂量や CAT 活性の違いが影響しているものと考えられた。また、ラドン吸入によ り心臓中の H₂O₂量は約 20%減少した。これは、t-GSH により H₂O₂が消去されたことで LPO 量が減 少した可能性が示唆できた。

参考文献

- K. Yamaoka, R. Edamatsu, A. Mori. "Increased SOD activities and decreased lipid peroxide levels induced by low dose X irradiation in rat organs" Free Radic. Biol. Med. 11: 299-306, 1991.
- 2) K. Yamaoka, S. Kojima, M. Takahashi, T. Nomura, K. Iriyama. "Change of glutathione

peroxidase synthesis along with that of superoxide dismutase synthesis in mice spleens after low-dose X-ray irradiation" Biochim. Biophys. Acta 1381: 265-270, 1998.

- S. Kojima, O. Matsuki, T. Nomura, A. Kubodera, Y. Honda, S. Honda, H. Tanooka, H. Wakasugi, K. Yamaoka. "Induction of mRNAs for glutathione synthesis-related proteins in mouse liver by low doses of γ-rays" Biochim Biophys Acta 1381: 312-318, 1998.
- 4) B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge. Free Radicals in Biology and Medicine, Second Ed., Clarendon Press, Oxford. 1989.
- 5) H. Sies, ed. "Oxidative Stress Oxidants and Antioxidants" Academic Press, London. 1991.
- 6) K. Yamaoka, T. Nomura, K. Iriyama, S. Kojima. "Inhibitory effects of prior low dose X-ray irradiation on Fe³⁺NTA-induced hepatopathy in rats" Physiol. Chem. Phys. Med. NMR 30: 15-23, 1998.
- 7) S. Kojima, O. Matsuki, T. Nomura, A. Kubodera, K. Yamaoka. "Elevation of mouse liver glutathione level by low-dose γ -ray irradiation and its effect on CCl₄-induced liver damage" Anticancer Res. 18: 2471-2476, 1998.
- K. Yamaoka, S. Kojima, T. Nomura. "Inhibitory effects of post low dose γ-ray irradiation on ferric-nitrilotriacetate-induced mice liver damage" Free Radic. Res. 32: 213-221, 2000.
- 9) T. Nomura, K. Yamaoka. "Low-dose γ -ray irradiation reduces oxidative damage induced by CCl₄ in mouse liver" Free Radic. Res. 27: 1324-33, 1999.
- T. Kataoka, T. Nomura, DH. Wang, T. Taguchi, K. Yamaoka. "Effects of post low-dose X-ray irradiation on carbon tetrachloride-induced acatalasemic mice liver damage" Physiol Chem. Phys. Med. NMR 37: 109-126, 2005.
- 11) S. Kojima, O. Matsuki, T. Nomura, K. Yamaoka, M. Takahashi, E. Niki. "Elevation of antioxidant potency in the brain of mice by low-dose gamma-ray irradiation and its effect on 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced brain damage" Free Radic. Biol. Med. 26: 388-395, 1999.
- 12) M. Yoshimoto, T. Kataoka, T. Toyota, T. Taguchi, K. Yamaoka. "Inhibitory effects f prior low-dose X-irradiation on cold-induced brain injury in mouse" Inflammation 35: 89-97, 2012.
- M. Takahashi, S. Kojima, K. Yamaoka, E. Niki. "Prevention of type I diabetes by low-dose gamma irradiation in NOD mice" Radiat. Res. 154: 680-685, 2000.
- 14) T. Kataoka, Y. Mizuguchi, M. Yoshimoto, T. Taguchi, K. Yamaoka. "Inhibitory effects of prior low-dose X-irradiation on ischemia-reperfusion injury in mouse paw" J. Radiat. Res. 48: 505-513, 2007.
- 15) 大和恵子,片岡隆浩,西山祐一,山岡聖典. "ラドン療法に関する最近の研究動向-鎮痛効果 に着目して-" 放射線生物研究 48: 66-81, 2013.
- S. Hukuda, M. Minami, T. Saito, H. Mitsui, N. Matsui, Y. Komatsubara, H. Makino, T. Shibata, M. Shingu, T. Sakou, K. Shichikawa. "Spondyloarthropathies in Japan:

nationwide questionnaire survey performed by the Japan Ankylosing Spondylitis Society" J. Rheumatol. 28: 554-559, 2001.

- 17) G. Lind-Albrecht. Radoninhalation bei morbus bechterew. In: P. Deetjen, A. Falkenbach (ed.), "Radon und Gesundheit" pp. 131-137, Frankfurt am Main, Peter Lang, 1999.
- 18) G.Lind-Albrecht, S. Rotheimer-Hering. "Reduktion des gastrointestinalen risikos in parallelität zur verminderten schmerzmedikation nach wiederholter radonstollentherapie bei spondylitis ankylosans - 12-jahres-follow-up einer kontrollierten prospektiven studie" J. Miner. Stoffwechs., 14: 147-149, 2007.
- 19) A. van Tubergen, R. Landewe, D. van der Heijde, A. Hidding, N. Wolter, M. Asscher, A. Falkenbach, E. Genth, H.G. Thè, S. van der Linden. "Combined spa-exercise therapy is effective in ankylosing spondylitis patients: a randomised controlled trial" Arthritis Rheum. 45: 430-438, 2001.
- 20) H.G. Pratzel, B. Legler, S. Heisig, G. Klein. "Schmerzstillender langzeiteffekt durch radonbäder bei nicht entzündlichen rheumatischen erkrankungen" In: P. Deetjen, A. Falkenbach (ed.), Radon und Gesundheit, pp. 163-182, Frankfurt am Main, Peter Lang, 1999.
- 21) A.Franke, L.Reiner, H.G. Pratzel, T. Franke, K.L. Resch. "Long-term efficacy of radon spa therapy in rheumatoid arthritis-a randomised, sham-controlled study and follow-up" Rheumatology 39: 894-902, 2000.
- 22) A. Franke, L. Reiner, K.L. Resch. "Long-term benefit of radon spa therapy in the rehabilitation of rheumatoid arthritis: a randomised, double-blinded trial" Rheumatol. Int. 27: 703-713, 2007.
- 23) K. Yamaoka, F. Mitsunobu, K. Hanamoto, S. Mori, Y. Tanizaki, K. Sugita. "Study on biological effects of radon and thermal therapy on osteoarthritis" J. Pain 5: 20-25, 2004.
- 24) F. Mitsunobu, K. Yamaoka, K. Hanamoto, S. Kojima, Y. Hosaki, K. Ashida, K. Sugita.
 Y. Tanizaki. "Elevation of antioxidant enzymes in the clinical effects of radon and thermal therapy for bronchial asthma" J. Radiat. Res. 44: 95-99, 2003.
- 25) 中川慎也, 片岡隆浩, 迫田晃弘, 石森 有, 花元克巳, 山岡聖典. "ラドン吸入試作装置に よるマウス諸臓器中の抗酸化機能の亢進に関する研究" Radioisotopes 57: 241-251, 2008.
- 26) Y. Ishimori, F. Mitsunobu, K. Yamaoka, H. Tanaka, T. Kataoka, A. Sakoda. "Development of a radon test facility for small animals" Jpn. J. Health Phys. 45: 65-71, 2010.
- 27) T. Kataoka, J. Teraoka, A. Sakoda, Y. Nishiyama, K. Yamato, M. Monden, Y. Ishimori,
 T. Nomura, T. Taguchi, K. Yamaoka. "Protective effects of radon inhalation on carrageenan-induced inflammatory paw edema in mice" Inflammation 35: 713-722, 2012.
- 28) T. Kataoka, A. Sakoda, Y. Ishimori, T. Toyota, Y. Nishiyama, H. Tanaka, F. Mitsunobu, K. Yamaoka. "Study of the response of superoxide dismutase in mouse organs to radon using a new large-scale facility for exposing small animals to radon" J. Radiat.

Res. 52: 775-781, 2011.

- 29) J.N. Keller, M.S. Kindy, F.W. Holtsberg, D.K. St, H.C. Clair, A. Yen, S.M. Germeyer, A.J. Steiner, J.B. Hutchins Bruce-Keller, M.P. Mattson. "Mitochondrial manganese superoxide dismutase prevents neural apoptosis and reduces ischemic brain injury: suppression of peroxynitrite production, lipid peroxidation, and mitochondrial dysfunction" J.Neurosci. 18: 687-697, 1998.
- 30) T. Kataoka, R. Etani, Y. Takata, Y. Nishiyama, A. Kawabe, M. Kumashiro, T. Taguchi,
 K. Yamaoka. "Radon inhalation protects against transient global cerebral ischemic injury in gerbils" Inflammation 37: 1675-1682, 2014.
- 31) T. Kataoka, R. Etani, N. Kanzaki, K. Sasaoka, Y. Kobashi, K. Hanamoto, T. Taguchi,
 K. Yamaoka. "Evaluating the protective effects of radon inhalation or ascorbic acid treatment after transient global cerebral ischemic injury in gerbils" J. Nucl. Sci. Technol. 53: 1681-1685, 2016.
- 32) T. Kataoka, Y. Nishiyama, T. Toyota, M. Yoshimoto, A. Sakoda, Y. Ishimori, Y. Aoyama,
 T. Taguchi, K. Yamaoka. "Radon inhalation protects mice from carbon-tetrachlorideinduced hepatic and renal damage" Inflammation 34: 559-567, 2011.
- 33) T. Kataoka, Y. Nishiyama, K. Yamato, J. Teraoka, Y. Morii, A. Sakoda, Y. Ishimori, T. Taguchi, K. Yamaoka. "Comparative study on the inhibitory effects of antioxidant vitamins and radon on carbon tetrachloride-induced hepatopathy" J. Radiat. Res. 53: 830-839, 2012.
- 34) T. Toyota, T. Kataoka, Y. Nishiyama, T. Taguchi, K. Yamaoka. "Inhibitory effects of pretreatment with radon on acute alcohol-induced hepatopathy in mice" Mediat. Inflamm. 2012: 10 pages, 2012.
- 35) R. Etani, T. Kataoka, Y. Nishiyama, Y. Takata, K. Yamaoka. "Combined effects of radon inhalation and antioxidant vitamin administration on acute alcohol-induced hepatopathy in mice" J. Nucl. Sci. Technol. 52: 1512-1518, 2015.
- 36) Y. Nishiyama, T. Kataoka, J. Teraoka, A. Sakoda, H. Tanaka, Y. Ishimori, T. Taguchi,
 F. Mitsunobu, K. Yamaoka. "Suppression of streptozotocin-induced type-1 diabetes in mice by radon inhalation" Physiol. Res. 62: 57-66, 2013.
- 37) S. Lenzen. "The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes" Diabetologia 51: 216-226, 2008.
- 38) Y. Nishiyama, T. Kataoka, J. Teraoka, A. Sakoda, Y. Ishimori, K. Yamaoka. "Inhibitory Effects of pre and post radon inhalation on carbon tetrachloride-induced oxidative damage in mouse organs" Radioisotopes 61: 231-241, 2012.
- 39) T. Kataoka, K. Yamato, Y. Nishiyama, Y. Morii, R. Etani, Y. Takata, K. Hanamoto, A. Kawabe, A. Sakoda, Y. Ishimori, T. Taguchi, K. Yamaoka. "Comparative study on the inhibitory effects of α-tocopherol and radon on carbon tetrachloride-induced renal damage" Ren. Fail. 34: 1181-1187, 2012
- 40) R. Etani, T. Kataoka, N. kanzaki, A. Sakoda, H. Tanaka, Y. Ishimori, F. Mitsunobu,

K. Yamaoka. "Difference in the action mechanism of radon inhalation and radon hot spring water drinking in suppression of hyperuricemia in mice" J. Radiat. Res. 57: 250-257, 2016.

- R. Etani, T. Kataoka, N. Kanzaki, A. Sakoda, H. Tanaka, Y. Ishimori, F. Mitsunobu,
 T. Taguchi, K. Yamaoka. "Protective effects of hot spring water drinking and radon inhalation on ethanol-induced gastric mucosal injury in mice" J. Radiat. Res. 58: 614-625, 2017.
- 42) Y. Nishiyama, T. Kataoka, K. Yamato, T. Taguchi, K. Yamaoka. "Suppression of dextran sulfate sodium-induced colitis in mice by radon inhalation" Mediat. Inflamm. 2012: 11 pages, 2012.
- 43) K. Yamato, T. Kataoka, Y. Nishiyama, T. Taguchi, K. Yamaoka. "Antinociceptive Effects of Radon Inhalation on Formalin-induced Inflammatory Pain in Mice" Inflammation 36: 355-363, 2013.
- 44) K. Yamato, T. Kataoka, Y. Nishiyama, T. Taguchi, K. Yamaoka. "Preventive and curative effects of radon inhalation on chronic constriction injury-induced neuropathic pain in mice" Eur. J. Pain 17: 480-492, 2013.
- 45) T. Kataoka, S. Horie, R. Etani, N. Kanzaki, K. Sasaoka, Y. Kobashi, K. Hanamoto, K. Yamaoka. "Activation of antioxidative functions by radon inhalation enhances the mitigation effects of pregabalin on chronic constriction injury-induced neuropathic pain in mice" Oxid. Med. Cell Longev. 2016: 8 pages, 2016.
- 46) T. Kataoka, R. Etani, N. Kanzaki, Y. Kobashi, Y. Yunoki, T. Ishida, A. Sakoda, Y. Ishimori, K. Yamaoka. "Radon inhalation induces manganese-superoxide dismutase in mouse brain via nuclear factor-κB activation" J. Radiat. Res. 58: 887-893, 2017.
- 47) 西山祐一, 片岡隆浩, 山岡聖典. "ラドンの健康影響に関する一考察 ラドン療法の効果と 機構に関する最近の研究動向"日本原子力学会和文論文誌 12: 267-276, 2013.
- 48) T.A. Gosink, M. Baskaran, D.F. Holleman, "Radon in the human body from drinking water" Health Phys. 59: 919-924, 1990.
- 49) Y. Ishimori, F. Mitsunobu, K. Yamaoka, H. Tanaka, T. Kataoka, A. Sakoda. "Performance of the first Japanese large-scale facility for radon inhalation experiments with small animals" Radiat. Protect. Dosim. 146: 31-33, 2011.
- 50) Y. Ishimori, H. Tanaka, A. Sakoda, T. Kataoka, K. Yamaoka, F. Mitsunobu. "Measurements of radon concentration in mouse tissues and organs" Radiat. Environ. Biophys. 56: 161-165, 2017.
- 51) L.B. Robert, K.M. Suzanne, D. Jacqueline, B.J. Jr. Richard. "The role of superoxide anion and hydrogen peroxide in phagocytosis-associated oxidative metabolic reactions" J. Clin. Invest. 56: 571-576, 1975.
- 52) M. M. Bradford. "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding" Anal. Biochem. 72: 248–254, 1976.

- 53) 佐藤祐造, 堀田饒, 長嶋誠, 角田博信, 大原清仁, 服部忠和, 国枝武英, 野村隆英, 篠田 廣, 坂本信夫, 松岡繁, 大石誠子, 八木國夫. "糖尿病患者の血漿過酸化脂質" 糖尿病 21: 913-919, 1978.
- 54) 吉川敏一,上田茂信,高橋周史,内藤裕二,小山田裕一,森田豊,谷川徹,竹村俊樹,杉野 成,近藤元治. "虚血-再灌流による胃粘膜障害とフリーラジカルおよび脂質過酸化" 日本 消化器病学会雑誌 87: 8-15, 1990.
- 55)藤田直,安田正秀. "過酸化脂質と生体膜" 日本薬理学雑誌 72: 279-286, 1976.
- 56) KM. Ahmed, JJ. Li. "NF- κ B-mediated adaptive resistance to ionizing radiation" Free Radic. Biol. Med. 44: 1-13, 2008.
- 57) 佐藤宏,高橋千太郎,久保田善久. "プルトニウムの体内動態 難溶性放射性粒子の呼吸気 道内挙動ならびにプルトニウムの胎児移行を中心として – " 保健物理 33: 298-30, 1998.
- 58) 山田裕司, 宮本勝宏, 小泉彰. "プルトニウムの吸入投与実験" 保健物理 33: 294-297, 1998.
- 59) 小木曽洋一,山田裕司,飯田治三,福津久美子,福田俊. "アルフア放射体内部被曝生物影響研究 ープルトニウム発がん実験を中心にー" 保健物理 33: 308-313, 1998.
- 60) "プルトニウムの吸入被曝による発がん等生物影響 一動物実験でどこまで明らかにされた
 か—" Isotope News 711: 9-13, 2013.
- 61) 石榑信人,仲野高志,榎本宏子. "生物学的安全性評価研究におけるプルトニウムの線量評価" 保健物理 33: 302-307, 1998.
- 62) 福田俊, 飯田治三. "プルトニウム影響のリスク低減化に関する研究" 保健物理 33: 314-320, 1998.
- 63) 小泉彰,福田俊. "プルトニウム動物実験施設の設計と管理経験" 保健物理 33:286-293, 1998.
- 64) 大野新一. "水の放射線分解による水素の生成" Radioisotopes 29: 401-408, 1980.
- 65) 佐野浩亮, 内海英雄. "活性酸素・フリーラジカルの分析" 化学と生物 37: 328-333, 1999.
- 66) 小林一雄. "活性酸素の寿命とその生理的意味,活性酸素(中野稔ほか編)",共立出版,東京, P26-31, 1988.
- 67) 小城勝相. "バイオファクター(シグナル伝達物質)としての過酸化水素" ビタミン 79: 334-337, 2005.
- L. Flohé, I. Brand. "Kinetics of glutathione peroxidase" Biochim. Biophys. Acta. 191: 541-549, 1969.
- 69)藤田直. "活性酸素,過酸化脂質,フリーラジカルの生成と消去機構並びにそれらの生物学
 的作用" Yakugaku Zasshi 122: 203-218, 2002.
- 70 K. Nishiki, D. Jamieson, N. Oshino, B. Chance. "Oxygen toxicity in the perfused rat liver and lung under hyperbaric conditions" Biochem. J. 160: 343-355, 1976.
- 71) B. Halliwell, JM. Gutteridge. "Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease" Biochem. J. 219: 1-14, 1984.
- 72) A. Sakoda, Y. Ishimori, A. Kawabe, T. Kataoka, K. Hanamoto, K. Yamaoka. "Physiologically based pharmacokinetic modeling of inhaled radon to calculate

absorbed doses in mice, rats, and humans" J. Nucl. Sci. Technol. 47: 731-738, 2010.

3.2 アルファ線のマイクロドジメトリに関する研究(再委託先:原子力機構)

3.2.1 パラメータの検討

3.2.1.1 文献調査

3.2.1.1.1 背景と目的

放射線の生物に対する作用は、放射線が生体を通過する際に付与するエネルギーで示され、こ の密度を表す量として LET が用いられる。しかし、生体作用は複雑な現象が重なった結果である ことが明らかになるにつれて、この LET の値と生体作用の程度が必ずしも一定の関係を持つとは 限らないとわかった。このように、放射線の種類やエネルギーが違う場合の生体作用の違いにつ いて、LET のような物理量で一律に表すことは困難であるため、RBE が用いられる。RBE は、ある 反応を起こすのに必要な標準となる放射線の吸収線量に対する、ある放射線でそれと同じ反応を 起こすのに必要な吸収線量の比で定義される。マイクロドジメトリは微視的領域に付与されるエ ネルギー分布を計算するもので、これによって放射線の違いによるトラック構造の違いを考慮し た RBE 推定が可能になる。マイクロドジメトリに用いる物理量として、微小空間における空間的 なエネルギー密度を考慮した線エネルギー(Lineal Energy, y)や比エネルギー(specific energy, z) がある。

このような議論は、1960年頃よりあった¹⁾。例えば、LET は、図 3-1 の A)に示すように、単位 距離あたりの平均付与エネルギーを表す。一方で、y や z は、図 3-1 の B)に示すように、微小領 域のサイトで付与されるエネルギー分布を考える指標であり、y は 1 イベントでサイト内に付与 されたエネルギーをそのサイトの平均弦長で除した値、z はサイト内に付与されたエネルギーを そのサイトの質量で除した値で定義される²⁾。図中では、それぞれの値を得るのに考える領域を 点線で示している。

他方,吸入ラドンの体内動態について,いくつかの報告があり,吸入されたラドンは呼気によってほとんどが体外へ排出されるが,一部は肺のガス交換によって血中に入り,全身の諸臓器中へと運ばれる。例えば,我々は,これまでに,ラドンを吸入したときのマウス,ラット,ヒトの諸臓器の吸収線量は,0.04~1.4 nGy/(Bq/m³)/day であることを報告した³⁾。また,マウスに2,000 Bq/m³のラドンを24時間吸入させ,抗酸化機能が亢進することも報告したが,主要臓器の被ばく線量は数百 nGy に過ぎず,極めて低い被ばくによる影響であると言える⁴⁾。

このような低い被ばく線量による生体影響評価は、細胞レベルの微小空間に注目して、局所的 な細胞への影響からラドンの生体影響を検討すれば、ラドンによる超低線量のα線被ばくが生体 に与える影響の一端を明らかにできると考えられる。したがって、マイクロドジメトリによって、 吸入したラドンが及ぼす超低線量被ばくによる生体影響を解明することは重要であると言える。 そこで、本節では、ラドンのマイクロドジメトリ研究の動向を把握するため文献調査を行い、そ の結果をまとめる。

3.2.1.1.2 方法

適当な文献を特定するために、まず Google Scholar を使用し、タイトルに「radon」と 「microdosimetry」を含む文献を検索した。ヒットした文献の中から、重複して検索された報告 や会議録等を除き、国際的な雑誌に掲載されている主要論文を抽出した、本研究を進めるために 必要な情報を収集した。ここでは、1990年以降のラドンに関係するマイクロドジメトリ研究の動 向をまとめた。

3.2.1.1.3 結果と考察

Google Scholar を使用して、タイトルに「radon」と「microdosimetry」が含まれる文献を検 索した結果,20件の報告がヒットした。そのうち、重複して検索された報告や会議録等を除くと 10 報に絞られ、国際的な雑誌に掲載されたものは9 報であった。それらの論文は、すべて Radiation Protection Dosimetry 誌に掲載された論文であった。また、いずれもラドンのリスク の観点から研究を進めており、ラドン自身ではなく、気道沈着した短寿命子孫核種のマイクロド ジメトリであった。1990年には3報あり、R.S. Caswell らは、ラドン子孫核種のうち α 線放出 核種である²¹⁸Poと²¹⁴Poについてマイクロドジメトリを行った⁵⁰。D.J. Brenner は、ラドン子孫 核種について、上皮の深さに関して発がんを考慮した荷重係数を計算し、低線量での相対効果の 推定を行った⁶⁰。T.E. Hui らは、吸入したラドンとその子孫核種による気道上皮の細胞核のマイ クロドジメトリの確立を目的とし、37 Bq/m³を 30 日吸入暴露した場合は細胞核の約 0.3%、37 Bq/m³を 30 日吸入暴露した場合は細胞核の約 10%に α 粒子がヒットすると試算した⁷⁰。続いて、 1992年と1994年には、W. Hofmann らが、ヒト気管支上皮に関して、細胞死、突然変異、形質転 換を考慮して、細胞核の線エネルギースペクトルの確率分布を求めた^{8,90}。その後、2005年~ 2008年にかけて、同研究チームにより、気道内の不均一なラドン子孫核種の分布から見たマイク ロドジメトリ研究が進められた。

次に、上記以外の近年のマイクロドジメトリ研究の動向を調査すると、細胞内での不均一性に 注目した報告や被ばくした細胞の周辺の細胞も影響を受けるバイスタンダー効果を考慮した報告 がいくつか見つかった¹⁰⁾。また、これらの文献調査により、PHITS を用いれば現実的な計算時間 でマイクロドジメトリ計算ができることがわかった。

3.2.1.1.4 まとめ

ラドンのマイクロドジメトリで行われている研究は、ラドンの肺がんリスクを懸念して、呼吸 器の構造に注目したラドン子孫核種による線量計算を中心に行われていた。本研究では、吸入し たラドンが肺のガス交換により血液によって全身へ運ばれた場合の諸臓器中での内部被ばくにつ いて検討するため、臓器間での細胞の大きさの違いや線源(ラドン)の位置の変化に注目したマ イクロドジメトリが必要であるとわかった。

3.2.1.2 実験準備

3.2.1.2.1 背景と目的

ヒトの血液細胞の大きさは、白血球は 7~20 μ m、赤血球は 6~9 μ m、血小板は 2~5 μ m と 言われている。脳は 5~100 μ m、肝臓ではおよそ 20 μ m とされており、細胞の種類により 2 μ m から 100 μ m までの大きな差がある。また、細胞核と細胞の大きさの比率は決まっているものも あるが、細胞分裂のタイミング等によって、その比は様々だと言われている。本研究で対象とす る α 線の水中での飛程は数十 μ m と短く、線源周辺の細胞にしか影響を与えないと考えられるが、 ブラッグピークを持つため、エネルギーが付与された細胞への影響は、線源からの距離により 各々の特徴があると推測される。そのため、細胞の大きさによる影響の差を検討する必要がある。 ラドン子孫核種の気道内の被ばく影響をマイクロドジメトリの観点から検討した報告はあるも のの,血中に取り込まれたラドンに関する影響を評価した報告はほとんどない。本研究の目的は, 吸入されたラドンが血中に取り込まれ,全身の諸臓器へ運ばれた際の被ばく線量について検討す ることである。生体を構成する細胞は多種多様であり,大きさ・種類・部位・機能が異なること から,本年度は,PHITS を用いて三次元で並べた細胞の体系を構築し,細胞の大きさ,細胞核の 大きさを変えた場合の y 分布と z 分布を計算した。

3.2.1.2.2 方法

マイクロドジメトリの計算には PHITS を用いた。細胞核は、半径 3 µm, 5 µm, 7 µmの球体 とし、それぞれの大きさに対し細胞の大きさを細胞核の 1.5 倍、2.0 倍、3.0 倍の球体に設定し、 細胞の主成分である H₂0 で満たした。細胞は、11×11×11 の格子構造の立方体に収まるよう細胞 同士を隣接させ、三次元的に並べた。線源は、中央の細胞核内にラドン(²²²Rn)が 1 個あること とした。また、線源からの位置で、その格子を 10 グループに分け、各グループについて、次式 で、y 分布や z 分布を算出した。ここで、z は比エネルギー、y は線エネルギー、 ϵ は微小領域へ の付与エネルギーの和、 ϵ 'は 1 回のエネルギー沈着事象での付与エネルギー、m は微小領域の 質量、d は微小領域の平均弦長である。

> Specific energy (比エネルギー) $z = \epsilon /m$ Lineal energy (線エネルギー) $y = \epsilon' /d$

ヒストリを10,000回で計算して、体系とα線の飛跡を確認した後、グループ毎のy分布とz分 布を出力した。

3.2.1.2.3 結果と考察

PHITS を用いて、細胞核の半径 3 μ m、5 μ m、7 μ mの各々の大きさに対し、細胞の大きさを 細胞核の 1.5 倍、2.0 倍、3.0 倍に変更したときの、体系と α 線の飛跡、および、グループ毎の y 分布と z 分布を計算した。体系や α 線の飛跡からもわかるように、ラドンの α 線の飛程はおよそ 45 μ m であり、線源(ラドン)から細胞数個分までしか α 線は到達しないことが分かった。 y 分 布および z 分布は、水中でのイベントごとの最少イオン化エネルギー、イオンの直接的な電離、 デルタ線による間接的な電離の 3 つのピークが示された。

3.2.1.2.4 まとめ

本実験では、3.2.1.1の文献調査を参考に、PHITSを用い、3次元的にH₂0で満たした細胞を配 置して、細胞と細胞核の大きさを数パターン設定し、マイクロドジメトリの計算に着手した。吸 入したラドンが血液を介して全身に回って、多種多様な細胞の中に存在することを想定し、細胞 と細胞核の大きさを変化させた場合のエネルギー沈着の空間分布を確認した。ラドンからのアル ファ線の飛程が数十µm であることから、エネルギーが付与されるのは線源(ラドン)から細胞 数個程度であり、ブラッグピーク周辺で付与されるエネルギーが高くなることがわかり、微小空 間で見た場合には、線量の不均一性が生じることがわかった。

参考文献

- 1) H.H. Rossi, M. Zaider. "Microdosimetry and its applications" Springer, Verlage. 1996.
- 2) International Commission on Radiation Units and Measurements, Microdosimetry, ICRU Report 36, 1983.
- A. Sakoda, Y. Ishimori, A. Kawabe, T. Kataoka, K. Hanamoto, K. Yamaoka. "Physiologically based pharmacokinetic modeling of inhaled radon to calculate absorbed doses in mice, rats, and humans" J. nucl. sci.technol. 47: 731-738, 2010.
- T. Kataoka. 010. dy of Antioxidative Effects and Anti-inflammatory Effects in Mice due to Low-dose X-irradiation or Radon Inhalation" J. Radiat. Res. 54: 587-596, 2013.
- 5) R.S. Caswell, J.J.Coyne. "Microdosimetry of radon and radon daughters" Radiat. Prot. Dosim. 31: 395-398, 1990.
- D. J. Brenner. "The microdosimetry of radon daughters and its significance" Radiat. Prot. Dosim. 31: 399-403, 1990.
- 7) T.E. Hui, J.W. Poston, D.R. Fisher. "The microdosimetry of radon decay products in the respiratory tract" Radiat. Prot. Dosim. 31: 405-411, 1990.
- W. Hofmann, M.G. Ménache, D.J. Crawford-Brown. "Microdosimetry of inhaled radon progeny" Radiat. Prot. Dosim. 45: 681-683, 1992.
- W. Hofmann, M. Nosterer, M.G. Menache, D.J. Crawford-Brown, R.S. Caswell, J.J. Coyne. "Microdosimetry and cellular radiation effects of radon progeny in human bronchial airways" Radiat. Prot. Dosim. 52: 381-385, 1994.
- 10) T. Sato, K Manabe, N Hamada. "Microdosimetric Analysis Confirms Sililar Biological Effectness of External Exposure to Gamma-Rays and Internal Exposure to ¹³⁷Cs, ¹³⁴Cs, and ¹³¹I" PLOS ONE 9: e99831, 2014.



図 3-1 線エネルギー付与 (Liner Energy Transfer, LET),線エネルギー (Lineal Energy, y), 比エネルギー (Specific Energy, z)の概念図

3.3 メタボローム解析に関する研究(再委託先:原子力機構)

3.3.1 ラドンの曝露実験と分析試料の調整

近年,生体内の物質を網羅的に調べるオミックス解析が可能となってきた。オミックス解析の ひとつに,代謝物を対象としたメタボローム解析がある。その他のオミックス解析ではゲノムや タンパクの生体機能を探索するのに対し,メタボローム解析では,それらの実行結果による代謝 産物を調べることにより,より生体の生理的性質を表す表現型が明らかにできる。放射線生物学 分野でも,バイオマーカーの探索やより詳細な機構解明のため,被ばく後のメタボローム解析が 行われている¹⁾。他方,我々はこれまでに,マウス生体内でのラドンの体内動態を報告してきた²⁾。 呼吸により取り込まれたラドンは呼気によってほとんどが体外へ排出されるが,一部は肺のガス 交換により血中に取り込まれ,極微量のラドンは全身の諸臓器へ運ばれ,そこでα線を放出し, 子孫核種になる。特に,脂肪組織や赤色骨髄での被ばく線量が比較的高いと報告した²⁾。また, ラドン吸入による小動物の諸臓器中の抗酸化機能亢進や諸臓器の疾患の抑制効果についても報告 してきた。この抗酸化機能の亢進のメカニズムとして,マウス脳中で細胞核内の転写因子である nuclear factor-κBが活性化され,ROSの消去に関わる酵素である Mn-SOD が誘導されているこ とを示唆した³⁾。そこで,本研究では,脳に注目し,ラドン吸入による血液および脳中の代謝物 の変化を検討した。

マウスへのラドン曝露実験の詳細は、3.1.1.2 と 3.1.1.3 に記述した通りである。小動物用ラ ドン曝露装置を用いて、8週齢・雄のBALB/c系マウスに、新鮮空気、ラドン1,000 Bq/m³, 10,000 Bq/m³を 24 時間曝露した後に炭酸ガスの過剰吸入により安楽死させ、血液と脳を採取した。1 群 の匹数は7匹とした。血液は心臓から採血し、常温で 90 分以上静置した後、4℃で 5 分間 3,000 ×g で遠心した上澄みを血清として分析サンプルとした。脳は、摘出後速やかに蒸留水で軽く洗 って水気をふき取り、左前頭葉の一部を分析サンプルとした。血清や脳を入れたチューブは液体 窒素で急冷し、-80℃で保存した。

3.3.2 メタボローム解析

3.3.2.1 背景と目的

メタボローム(代謝物)を対象にしたメタボローム解析は、オミックス解析の中でも新しい分 野で、近年、注目を集めている⁴⁾。メタボローム解析では質量分析法が最もよく用いられるが、 多検体に対して多種多様な構造・物性を有している膨大な数の代謝物を網羅的に分析するための 高速化や高精度化が課題となっている。質量分析法により得られたクロマトグラムのピークを同 定し、説明変数は代謝物名、従属変数は各代謝物のピーク面積としてピーク面積を積分すること により、データ解析可能な多次元の数値データに変換する。その後、得られた定量データを用い て、多変量解析等のデータマイニングが行われる。データマイニングの手法は、重回帰分析、判 別分析、クラスタ分析、主成分分析、因子分析等が候補として考えられるが、研究の目的により 使い分ける必要がある。従来の統計手法による多変量解析は線形のデータしか表現できないが、 機械学習は曖昧で複雑なデータの解析に適しており、非線形のデータにも適応できる。自己組織 化マップ(Self-organizing maps, SOM)は、機械学習の中でもデータの類似度を視覚的に表現 するデータ解析手法で、従来の統計手法と比較して精度が高いと言われている⁵⁾。本研究の目的 は、マウスがラドンを吸入した際の内部被ばくの影響を評価することである。我々は、マウスが ラドンを吸入することで抗酸化機能が亢進することを報告してきたが⁶⁰,本研究では,抗酸化物 質のひとつであるグルタチオンを含むイオウ関連化合物に注目したメタボローム解析であるサル ファーインデックス解析を行った。高速液体クロマトグラフ質量分析 LC/MS/MS により,どんな 種類のイオウ関連化合物がどの程度存在しているのかを網羅的に検討した。さらに,データ解析 方法として,SOM の有用性を検討した。

3.3.2.2 方法

メタボローム解析は、①サンプルの収集、②サンプルの調整、③分析、④データの取得、⑤デ ータの解析、⑥情報抽出の6つのステップで行った。①サンプルの収集は3.3.1で述べた通りで、 ②③④はサルファーインデックス分析を行った⁷⁻¹¹⁾。その後、⑤⑥では、網羅的に探索された代 謝物の変化の傾向をつかみ、平成31年度に行うデータ解析手法の候補となるデータ解析手法の 検討を行った。以下に、各ステップで行った詳細な手順を述べる。

①サンプルの収集

3.3.1 で述べた通り, バックグラウンドレベル, 1,000 Bq/m³, 10,000 Bq/m³のラドンを 24 時 間曝露させた各群 7 匹のマウスの血清と脳を採取した。

②サンプルの調整

血清は、血清 40 µL に対し、80 µL の内部標準物質を含むメタノール抽出液を加えて懸濁 し、遠心分離を行って上澄み 100 µL を採取した。硫黄化合物標識試薬等を計 30 µL 添加し、 再懸濁後、遠心分離し、上澄み 87 µL を遠心型エバポレーターで乾固した。水 60 µL に再 懸濁後、遠心分離した上澄み 5 µL を分析サンプルとした。

脳は、脳組織およそ 50 mg に対し、250 μ Lの内部標準物質を含むメタノール抽出液を加えて ペッスルですり潰し、遠心分離を行って上澄み 100 μ L を採取した。硫黄化合物標識試薬等 を計 30 μ L 添加し、再懸濁後、遠心分離し、上澄み 87 μ L を遠心型エバポレーターで乾固 した。水 60 μ L に再懸濁後、遠心分離した上澄み 5 μ L を分析サンプルとした。

③サルファーインデックス分析

調整した分析サンプルに含まれる硫黄化合物は、サルファーインデックスメソッドにより、 超高速トリプル四重極型 LC/MS/MS システム LCMSMS8040(島津製作所製)用いて分析した。

④データの取得

サルファーインデックス分析測定対象化合物種である 55 個のイオウ関連化合物種で得られた クロマトグラムのピーク面積(内部標準化合物で標準化)を用い,相対定量をした。

⑤データの解析

【使用したデータ】

サルファーインデックス分析で検出されたデータを用いて解析した。本実験では、ラドン曝 露実験で、Sham 群、1,000 Bq/m³群、10,000 Bq/m³群の3群に対して、各群でマウス7匹を 用いたため、サンプル数は21 検体である。また、血清では24 種の化合物、脳では27 種の化合物が検出されたため、血清サンプルのデータは、24 次元を持った21 データ、脳サンプルのデータは、27 次元を持った21 データとなった。統計による解析では、その生データを用い、SOM による解析では、その生データを以下の式で標準化したデータを用いた。

$$X_{\text{new}} = (X - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$$

ここで、 X_{new} は標準化されたデータ、Xは生データ、 X_{min} はXの最小値、 X_{max} はXの最大値である。

【統計による解析】

各イオウ関連化合物種の相対定量値について,各群の平均値と標準誤差を求め,ダネットの 検定を行った。縦軸を基準化されたピーク面積から求めた相対定量値,横軸を各群とし,棒 グラフを作成した。さらに,主成分分析とウォード法によるクラスタリングを行った。クラ スタ数は,まず,Sham群,1,000 Bq/m³群,10,000 Bq/m³群の3クラスタを設定し,さらに, クラスタの細分化を検討した6クラスタを設定した。P値はP<0.05の際に有意差ありとした。

【機械学習による解析】

- 上記のような従来の多変量解析では、線形の特徴把握しかできないため、非線形で多次元デ ータを二次元に低次元化してマッピングすることができる機械学習の一種である二次元 SOM を用いたデータ解析を行った。本年度は、データ解析手法の検討として血清のデータについ て SOM によるデータ解析を行い、SOM のサルファーインデックス解析の有用性を検討した。 SOM は、入力層と競合層の2層からなり、競合層から入力に対して最も整合するユニットを決 定し、その近傍にあるユニットを入力データに近づけることで学習を行う(図 3-2)。競合層 では、徐々に入力データの特徴が反映されていき、類似した特徴を持ったユニットが集まっ た領域が作られていく。詳細なアルゴリズムを以下に記す。
- 1) 競合層にユニットを配置し、それぞれの持つ参照ベクトルを初期化する。
- 2) 入力データとの差が最小となる競合層のユニットを勝者とする。
- 3) 勝者ユニットの近傍を次式で更新する。

 $m_i(t+1) = m_i(t) + \alpha(t) \cdot h(d, t) [x(t)-m_i(t)]$

競合層のユニット *i* が時刻 *t* で参照ベクトル m_i (*t*)を処理し,入力データ x(*t*)を学習して, m_i (*t*+1)となる。 m_i と *x* は同じ *n* 次元の要素を持つ。*d* は勝者ユニットと更新される参照ベクトルの距離で,学習率係数 α (*t*)と近傍関数 *h*(*d*,*t*)は,一般に学習が進むにつれて減少関数で設定する。

4) 上記 2)に戻って,設定した学習回数だけ学習を繰り返す。

本研究では、競合層のユニット数は経験的に設定し、縦横 10×10 の 100 個とした。近傍を効 率よく学習させるためにユニットの形は六角形とし、初期化には乱数を用いて、初期マップ はランダムとした。また、近傍半径は 30 でまずマップ全体が十分に含まれるように設定し、 経験的に、学習率は 0.5、学習回数は 1,000 回と設定した。SOM の出力マップには、U-matrix を用いた¹²⁾。一般的に SOM の表現方法として用いられる U-matrix は, 競合層の各ユニットが 近傍のユニットと異なる度合いを色づけし, 局所的なデータの差を表したマップを出力する ことができる。つまり, 色合いでデータ全体の特徴の類似度を表す。SOM で出力されたマップ は局所的なデータの関係性が反映され, 似通ったデータが近くに配置されるが, 計算には乱 数が用いられるため, 計算する度に出力マップが変化する。そのため, 本実験では, 計算を 3 回行い, データ配置等を注意深く観察して, 代表的なマップを解とした。最終的に, 参照ベ クトルについてウォード法によるクラスタリングを行い, マップのデータ配置を確認した後, 統計解析の結果と比較検討した。

⑥情報抽出

統計解析および機械学習によって得られた情報から、ラドン吸入による被ばくによって代謝 がどのように変化するか情報抽出した。

3.3.2.3 結果と考察

血清においては、ヒスチジン、セリン、ホモセリン等の計 24 種の化合物が検出された。脳に おいては、ヒスチジン、シスタチオニン、セリン等の計 27 種の化合物が検出された。

検出された化合物のうち、ラドン 1,000 Bq/m³の吸入により、血液中のエルゴチオネイン、シ ステイン、システインモノスルフィド、グルタチオンモノスルフィド、グルタチオンジスルフィ ド、グルコース、乳酸が有意に減少した。また、ラドン 10,000 Bq/m³の吸入では、尿素、グルコ ースが有意に減少し、S-メチルシステイン、S-グルタミンシステインが有意に増加した。さらに、 1,000 Bq/m³ の吸入により、脳中の尿素、酸化型グルタチオンモノスルフィドが有意に減少し、 ヒスチジン、S-メチルシステイン、メチオニン、S-アデノシルホモシステイン、エルゴチオネイ ン、システイン、酸化型グルタチオンジスルフィド、S-グルタミルシステイン、グルタチオンジ スルフィド、乳酸、亜硫酸イオン、硫化物イオンが有意に増加した。また、ラドン 10,000 Bq/m³ の吸入では、尿素、S-メチルシステイン、メチオニン、システニルグリシン、システイン、酸化 型グルタチオンジスルフィド、S-グルタミルシステイン、硫化物イオンが有意に増加した。

主成分分析では、血清ではデータ分布に特徴は見られず、第一主成分でも第二主成分でも特別 な特徴は得られなかった。累積寄与率は、第一主成分で 0.3578、第二主成分まででも 0.5275 で あり、第五主成分までで 0.8 を超えた。脳では、Sham 群、 1,000 Bq/m³群、10,000 Bq/m³群の順 に線量依存的に並んでおり、第一主成分を見ると酸化型グルタチオンモノスルフィド等が多く含 まれていることがわかった。つまり、ラドン濃度が高く被ばく線量が増加するとグルタチオン関 連化合物に関して酸化傾向にあることが示唆された。しかし、累積寄与率は、第一主成分で 0.3332、第二主成分まででも 0.4792 であり、第六主成分までで 0.8 を超えた。

ウォード法によるクラスタリングの結果,血清では,Sham 群,1,000 Bq/m³ 群,10,000 Bq/m³ 群の3つのクラスタリングは成立せず,クラスタをさらに細分化して6クラスタに設定すれば, Sham 群,1,000 Bq/m³群,10,000 Bq/m³群の3つのクラス毎に大まかに分かれているように見え るが,決定的な特徴を得ることはできなかった。脳では,Sham 群,1,000 Bq/m³群,10,000 Bq/m³ 群の3つのクラスタリングにより,4個のSham 群データ含まれるクラスタ(クラスタ内で80%の 最大の割合を占める),5個の1,000 Bq/m³群データが含まれるクラスタ(クラスタ内で50%の最 大の割合を占める), 4 個の 10,000 Bq/m³ 群データが含まれるクラスタ (クラスタ内で 67%の最 大の割合を占める)となり,クラスタをさらに細分化して 6 クラスタに設定すれば, Sham 群, 1,000 Bq/m³群, 10,000 Bq/m³群の 3 つのクラス毎に大まかに分かれているように見えるが,決定 的な特徴を得ることはできなかった。

SOM によるデータ解析の検討では、血清のみ解析を行い、本研究のメタボローム解析への SOM の適用について検討した。得られた分析結果を標準化したデータを用いて SOM の計算を行い、マ ップを出力した。この出力マップの参照ベクトルについてウォード法によるクラスタリングを行 った結果, Sham 群, 1,000 Bq/m³群, 10,000 Bq/m³群の3つのクラスを想定してクラスタリング すると、4 個の Sham 群データが含まれるクラスタ(クラスタ内で 57%の最大の割合を占める)、 4 個の 1,000 Bq/m³ 群データが含まれるクラスタ(クラスタ内で 57%の最大の割合を占める),4 個の 10,000 Bq/m³ 群データが含まれるクラスタ(クラスタ内で 57%の最大の割合を占める)とな った。クラスタをさらに細分化して6クラスタに設定すると、各クラスタが2つずつのクラスタ に分類された。マップの見た目でデータの配置などを検討すると, Sham 群のデータは出力マップ の下側に、1,000 Bq/m³群のデータは出力マップの左側に、10,000 Bq/m³群のデータは出力マップ の右側に配置され,想定した Sham 群,1,000 Bq/m³群,10,000 Bq/m³群の3つのクラスである程 度の分類ができた。また、ウォード法によるクラスタリングと SOM のウォード法によるクラスタ リングの結果を比較すると,想定した Sham 群,1,000 Bq/m³群,10,000 Bq/m³群の3 クラスタで は 38%, さらに詳細に分類した 6 クラスタでは 43%でしか整合性が取れなかったが, 同じクラス タ間での同様の誤りが多く見られることから、両者のクラスタリング結果はおおよそ整合性が取 れていると考えられる。

3.3.2.4 まとめ

血清と脳のメタボローム解析を行い、検出されたイオウ関連化合物についてα核種でかつ過去 の知見の多いラドンをマウスに吸入させた場合の変化特性を検討した。各化合物の変化に線量依 存性は見られず、1,000 Bq/m³を24時間吸入した場合と10,000 Bq/m³を24時間吸入した場合の 差を来年度以降の結果も踏まえ考察していく必要がある。また、血清データの解析手法を検討し た結果、主成分分析とSOM による多次元データの低次元化では、主成分分析で特徴が得られにく かったのに対し、SOM で得られたマップは、クラスタをまたがっても想定したクラスでデータが まとまって表示されており、理想的なデータ配置であったと考えられた。さらに、統計解析のウ オード法によるクラスタリングとSOM のウォード法によるクラスタリングの結果を比較すると、 3 クラスタでのクラスタリングで整合性がないように見えるのは、統計解析のウォード法でのク ラスタリングが成立していないためであり、6 クラスタでのクラスタリングでは、これらの結果 にある程度の整合性が確認できた。これより、機械学習の一種である自己組織化マップ (SOM) は、本研究のサルファーインデックス解析に応用できることがわかった。来年度は、ラドン曝露 条件が加わることでデータ量が増え、α核種の吸入による生物学的影響評価研究にとって、さら に有益な結果が得られることが期待できる。

参考文献

- L. Sun, T. Moritake, K. Ito, Y. Matsumoto, H. Yasui, H. Nakagawa, A. Hirayama, O. Inanami, K. Tsuboi. "Metabolic analysis of radioresistant medulloblastoma stem-like clones and potential therapeutic targets" PLoS ONE. 12: e0176162, 2017.
- A. Sakoda, Y. Ishimori, A. Kawabe, T. Kataoka, K. Hanamoto, K Yamaoka. "Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling of Inhaled Radon to Calculate Absorbed Doses in Mice, Rats, and Humans" J. Nucl. Sci. Technol. 47: 731-738, 2012.
- T. Kataoka, R. Etani, N. Kanzaki, Y. Kobashi, Y. Yunoki, T. Ishida, A. Sakoda, Y. Ishimori, K. Yamaoka. "Radon inhalation induces manganese-superoxide dismutase in mouse brain via nuclear factor-κB activation" J. Radiat. Res. 58: 887-893, 2017.
- 4) 草野都, 斉藤和季. "メタボロミクスの考え方と解析の概要"化学と生物 43: 101-108, 2005.
- 5) T. Kohonen. "Self-organized formation of topologically correct feature maps" Biol. Cybern. 43: 59-69, 1982.
- 6) N. Kanzaki, T. Kataoka, Y. Kobashi, Y. Yunoki, T. Ishida, A. Sakoda, Y. Ishimori, K. Yamaoka. "Knowledge discovery of suppressive effect of disease and increased anti-oxidative function by low-dose radiation using self-organizing map" Radioisotopes 67: 43-57, 2018.
- 7) Y. Kawano, I. Ohtsu, A. Tamakoshi, M. Shiroyama, A. Tsuruoka, K. Saiki, K. Takumi, G. Nonaka, T. Nakanishi, T. Hishiki, M. Suematsu, H. Takagi. "Involvement of the yciW gene in 1-cysteine and 1-methionine metabolism in Escherichia coli" J. Biosci. Bioeng. 119: 310-313, 2015.
- K. Yamada, T. Nitta, K. Atsuji, M. Shiroyama, K. Inoue, C. Higuchi, N. Nitta, S. Oshiro, K. Mochida, O. Iwata, I. Ohtsu, K. Suzuki. "Characterization of sulfur-compound metabolism underlying wax-ester fermentation in Euglena gracilis" Sci. Rep. 9: 853, 2019.
- 9) N. Tanaka, Y. Kawano, Y. Satoh, T. Dairi, I. Ohtsu. "Gram-scale fermentative production of ergothioneine driven by overproduction of cysteine in Escherichia coli." Sci. Rep. 9: 1895, 2019.
- 10) 河野祐介,山田康嗣,鈴木健吾,大津厳生. "微生物が有する硫黄代謝の魅力と展望" ケミカルエンジニヤリング 63: 66-72, 2018.
- 11) 日本国特許第 6426329 号 / W0/2018/201879 / PCT/JP2018/018154 / 特願 2017-094037
 (㈱ユーグレナ),「揮発性低分子硫黄化合物の定量方法,硫黄化合物含有物質の評価方法」
- A. Ultsch, H. P. Siemon. "Kohonen's Self Organizing Feature Maps for Exploratory Data Analysis" In Proceedings of International Neural Networks Conference (INNC): 305-308, 1990.

JAEA-Review 2019-024



図 3-2 SOM の構成

4. 結言

本研究では、α核種の吸入による生物学的影響をマイクロドジメトリ、組織レベル、生体レベ ルで横断的に検討するため、ラドンから放出されたα線がヒットした細胞が受ける線量、および、 バイスタンダー効果による周辺細胞への影響を考慮した RBE 算出, 生体内でα線が放出された際 に起こる物理的反応により生じる ROS の測定およびそれを消去する抗酸化機能の測定、また、網 羅的な生体内代謝物の変動について検討した。さらに、プルトニウムからの内部被ばくに関する 文献調査をした。その結果、臓器間での細胞の大きさが異なること考慮した線量評価ができた。 また、ラドンをマウスに吸入させた場合、肝臓中と心臓中の LPO 量が有意に減少したことから、 ラドン吸入は酸化ストレスを軽減することが示唆できた。他方,高濃度のラドンを吸入した場合, 肺中の LPO 量が有意に増加したことから、酸化ストレスを誘導することが示唆できた。特に、ラ ドン吸入により肺中の H₂O₂ 量が約 20%増加したことが,肺の酸化ストレスに関与している可能性 が示唆できた。さらに、血清と脳のメタボローム解析の結果、検出されたイオウ関連化合物の変 化に線量依存性は見られなかった。データ解析手法を検討した結果, SOM で得られたマップは理 想的なデータ配置であることがわかった。その上、文献調査の結果、プルトニウムの吸入による 生体動態はその化学系やプルトニウム化合物の焼結温度に依存することなどがわかり、ラドンに よる内部被ばくと比較するための重要な知見が得られた。これらの知見により、次年度以降のα 核種の吸入による生物学的影響評価に向けた基礎的なデータが得られた。

This is a blank page.

_

表 1. SI 基本単位							
甘大昌	SI 基本ì	単位					
本平里	名称	記号					
長さ	メートル	m					
質 量	キログラム	kg					
時 間	秒	s					
電 流	アンペア	Α					
熱力学温度	ケルビン	Κ					
物質量	モル	mol					
光度	カンデラ	cd					

表 2. 基本単位を用いて表されるSI組立単	位の例						
AI 立 是 SI 組 立 単位	SI 組立単位						
名称	記号						
面 積 平方メートル	m ²						
体 積 立方メートル	m ³						
速 さ , 速 度 メートル毎秒	m/s						
加 速 度メートル毎秒毎秒	m/s^2						
波 数 毎メートル	m ⁻¹						
密度,質量密度キログラム毎立方メートル	kg/m ³						
面 積 密 度 キログラム毎平方メートル	kg/m ²						
比体積 立方メートル毎キログラム	m ³ /kg						
電 流 密 度 アンペア毎平方メートル	A/m ²						
磁 界 の 強 さ アンペア毎メートル	A/m						
量 濃 度 ^(a) , 濃 度 モル毎立方メートル	mol/m ⁸						
質量濃度 キログラム毎立方メートル	kg/m ³						
輝 度 カンデラ毎平方メートル	cd/m ²						
屈 折 率 ^(b) (数字の) 1	1						
比 透 磁 率 ^(b) (数字の) 1	1						
(a) 量濃度 (amount concentration) は臨床化学の分野では物質濃度							

(substance concentration)ともよばれる。
 (b) これらは無次元量あるいは次元1をもつ量であるが、そのことを表す単位記号である数字の1は通常は表記しない。

表3. 固有の名称と記号で表されるSI組立単位

	SI 起立单位							
組立量	名称	記号	他のSI単位による 表し方	SI基本単位による 表し方				
平 面 角	ラジアン ^(b)	rad	1 ^(b)	m/m				
立体鱼	ステラジアン ^(b)	$sr^{(c)}$	1 (b)	m^2/m^2				
周 波 数	ヘルツ ^(d)	Hz	-	s ⁻¹				
力	ニュートン	Ν		m kg s ⁻²				
E 力 , 応 力	パスカル	Pa	N/m ²	$m^{-1} kg s^{-2}$				
エネルギー,仕事,熱量	ジュール	J	N m	$m^2 kg s^2$				
仕 事 率 , 工 率 , 放 射 束	ワット	W	J/s	m ² kg s ⁻³				
電 荷 , 電 気 量	クーロン	С		s A				
電位差(電圧),起電力	ボルト	V	W/A	$m^2 kg s^{\cdot 3} A^{\cdot 1}$				
静電容量	ファラド	F	C/V	$m^{-2} kg^{-1} s^4 A^2$				
電気抵抗	オーム	Ω	V/A	$m^2 kg s^{-3} A^{-2}$				
コンダクタンス	ジーメンス	s	A/V	$m^{2} kg^{1} s^{3} A^{2}$				
磁東	ウエーバ	Wb	Vs	$m^2 kg s^2 A^{-1}$				
磁束密度	テスラ	Т	Wb/m ²	$kg s^{2} A^{1}$				
インダクタンス	ヘンリー	Н	Wb/A	$m^2 kg s^2 A^2$				
セルシウス温度	セルシウス度 ^(e)	°C		K				
光東	ルーメン	lm	cd sr ^(c)	cd				
照度	ルクス	lx	lm/m ²	m ⁻² cd				
放射性核種の放射能 ^(f)	ベクレル ^(d)	Bq		s ⁻¹				
吸収線量, 比エネルギー分与, カーマ	グレイ	Gy	J/kg	$m^2 s^2$				
線量当量,周辺線量当量, 方向性線量当量,個人線量当量	シーベルト ^(g)	Sv	J/kg	$m^2 s^{-2}$				
酸素活性	カタール	kat		s ⁻¹ mol				

酸素活性(1) ダール kat [s¹ mol]
 (w)SH接頭語は固有の名称と記号を持つ組立単位と組み合わせても使用できる。しかし接頭語を付した単位はもはや コヒーレントではない。
 (h)ラジアンとステラジアンは数字の1に対する単位の特別な名称で、量についての情報をつたえるために使われる。 実際には、使用する時には記号rad及びsrが用いられるが、習慣として組立単位としての記号である数字の1は明 示されない。
 (a)測光学ではステラジアンという名称と記号srを単位の表し方の中に、そのまま維持している。
 (d)へルツは周期現象についてのみ、ペラレルは放射性核種の統計的過程についてのみ使用される。 セルシウス度はケルビンの特別な名称で、セルシウス温度を表すために使用される。それシウス度とケルビンの
 (a)やレシウス度はケルビンの特別な名称で、温度器や温度開隔を表す整備はどもらの単位で表しても同じである。
 (b)放射性核種の放射能(activity referred to a radionuclide) は、しばしば誤った用語で"radioactivity"と記される。
 (g)単位シーベルト(PV,2002,70,205) についてはCIPM物告2(CI-2002)を参照。

表4.単位の中に固有の名称と記号を含むSI組立単位の例

	S	[組立単位	
組立量	名称	記号	SI 基本単位による 表し方
粘度	パスカル秒	Pa s	m ⁻¹ kg s ⁻¹
カのモーメント	ニュートンメートル	N m	m ² kg s ⁻²
表 面 張 九	リニュートン毎メートル	N/m	kg s ⁻²
角 速 度	ラジアン毎秒	rad/s	m m ⁻¹ s ⁻¹ =s ⁻¹
角 加 速 度	ラジアン毎秒毎秒	rad/s^2	$m m^{-1} s^{-2} = s^{-2}$
熱流密度,放射照度	ワット毎平方メートル	W/m^2	kg s ⁻³
熱容量、エントロピー	ジュール毎ケルビン	J/K	$m^2 kg s^{2} K^{1}$
比熱容量, 比エントロピー	ジュール毎キログラム毎ケルビン	J/(kg K)	$m^{2} s^{2} K^{1}$
比エネルギー	ジュール毎キログラム	J/kg	$m^2 s^2$
熱伝導率	「ワット毎メートル毎ケルビン	W/(m K)	m kg s ⁻³ K ⁻¹
体積エネルギー	ジュール毎立方メートル	J/m ³	m ⁻¹ kg s ⁻²
電界の強さ	ボルト毎メートル	V/m	m kg s ⁻³ A ⁻¹
電 荷 密 度	クーロン毎立方メートル	C/m ³	m ⁻³ s A
表面電荷	「クーロン毎平方メートル	C/m ²	m ⁻² s A
電東密度, 電気変位	クーロン毎平方メートル	C/m ²	m ² s A
誘 電 辛	コアラド毎メートル	F/m	$m^{-3} kg^{-1} s^4 A^2$
透 磁 率	ペンリー毎メートル	H/m	m kg s ⁻² A ⁻²
モルエネルギー	ジュール毎モル	J/mol	$m^2 kg s^2 mol^1$
モルエントロピー, モル熱容量	ジュール毎モル毎ケルビン	J/(mol K)	$m^2 kg s^{-2} K^{-1} mol^{-1}$
照射線量(X線及びγ線)	クーロン毎キログラム	C/kg	kg ⁻¹ s A
吸収線量率	ダレイ毎秒	Gy/s	$m^{2} s^{3}$
放 射 強 度	ワット毎ステラジアン	W/sr	$m^4 m^{-2} kg s^{-3} = m^2 kg s^{-3}$
放射輝度	ワット毎平方メートル毎ステラジアン	$W/(m^2 sr)$	m ² m ⁻² kg s ⁻³ =kg s ⁻³
酵素活性濃度	カタール毎立方メートル	kat/m ³	$m^{-3} s^{-1} mol$

表 5. SI 接頭語									
乗数	名称	名称 記号 乗		名称	記号				
10^{24}	э 9	Y	10 ⁻¹	デシ	d				
10^{21}	ゼタ	Z	10^{-2}	センチ	с				
10^{18}	エクサ	Е	10^{-3}	ミリ	m				
10^{15}	ペタ	Р	10^{-6}	マイクロ	μ				
10^{12}	テラ	Т	10^{-9}	ナノ	n				
10^{9}	ギガ	G	10^{-12}	ピコ	р				
10^{6}	メガ	М	10^{-15}	フェムト	f				
10^3	+ 1	k	10^{-18}	アト	а				
10^{2}	ヘクト	h	10^{-21}	ゼプト	z				
10^{1}	デカ	da	10^{-24}	ヨクト	v				

表6.SIに属さないが、SIと併用される単位								
名称	記号	SI 単位による値						
分	min	1 min=60 s						
時	h	1 h =60 min=3600 s						
日	d	1 d=24 h=86 400 s						
度	۰	1°=(π/180) rad						
分	,	1'=(1/60)°=(π/10 800) rad						
秒	"	1"=(1/60)'=(π/648 000) rad						
ヘクタール	ha	1 ha=1 hm ² =10 ⁴ m ²						
リットル	L, 1	1 L=1 l=1 dm ³ =10 ³ cm ³ =10 ⁻³ m ³						
トン	t	$1 t=10^3 kg$						

表7. SIに属さないが、SIと併用される単位で、SI単位で

表され								
名称	記号	SI 単位で表される数値						
電子ボルト	eV	1 eV=1.602 176 53(14)×10 ⁻¹⁹ J						
ダルトン	Da	1 Da=1.660 538 86(28)×10 ^{·27} kg						
統一原子質量単位	u	1 u=1 Da						
天 文 単 位	ua	1 ua=1.495 978 706 91(6)×10 ¹¹ m						

表8. SIに属さないが、SIと併用されるその他の単位

名称	記号	SI 単位で表される数値	
バール	bar	1 bar=0.1MPa=100 kPa=10 ⁵ Pa	
水銀柱ミリメートル	mmHg	1 mmHg≈133.322Pa	
オングストローム	Å	1 Å=0.1nm=100pm=10 ⁻¹⁰ m	
海 里	Μ	1 M=1852m	
バーン	b	$1 \text{ b}=100 \text{ fm}^2=(10^{-12} \text{ cm})^2=10^{-28} \text{ m}^2$	
ノット	kn	1 kn=(1852/3600)m/s	
ネーパ	Np	ci単位しの粉結的な間接け	
ベル	В	対数量の定義に依存。	
デシベル	dB -		

表9. 固有の名称をもつCGS組立単位

名称	記号	SI 単位で表される数値			
エルグ	erg	1 erg=10 ⁻⁷ J			
ダイン	dyn	1 dyn=10 ⁻⁵ N			
ポアズ	Р	1 P=1 dyn s cm ⁻² =0.1Pa s			
ストークス	St	$1 \text{ St} = 1 \text{ cm}^2 \text{ s}^{\cdot 1} = 10^{\cdot 4} \text{ m}^2 \text{ s}^{\cdot 1}$			
スチルブ	$^{\mathrm{sb}}$	$1 \text{ sb} = 1 \text{ cd cm}^{-2} = 10^4 \text{ cd m}^{-2}$			
フォト	ph	1 ph=1cd sr cm ⁻² =10 ⁴ lx			
ガ ル	Gal	1 Gal =1cm s ⁻² =10 ⁻² ms ⁻²			
マクスウエル	Mx	$1 \text{ Mx} = 1 \text{G cm}^2 = 10^{-8} \text{Wb}$			
ガウス	G	1 G =1Mx cm ⁻² =10 ⁻⁴ T			
エルステッド ^(a)	Oe	1 Oe ≙ (10 ³ /4 π)A m ⁻¹			
(a) 3元系のCGS単位系とSIでは直接比較できないため、等号「 ≦ 」					

は対応関係を示すものである。

表10. SIに属さないその他の単位の例								
名称					記号	SI 単位で表される数値		
キ	ユ		IJ	ſ	Ci	1 Ci=3.7×10 ¹⁰ Bq		
$\scriptstyle u$	\sim	ŀ	ゲ	\sim	R	$1 \text{ R} = 2.58 \times 10^{-4} \text{C/kg}$		
ラ				k	rad	1 rad=1cGy=10 ⁻² Gy		
$\scriptstyle u$				Д	rem	1 rem=1 cSv=10 ⁻² Sv		
ガ		$\boldsymbol{\mathcal{V}}$		7	γ	$1 \gamma = 1 \text{ nT} = 10^{-9} \text{T}$		
フ	T.		N	"		1フェルミ=1 fm=10 ⁻¹⁵ m		
メー	ートル	/系	カラゞ	ット		1 メートル系カラット= 0.2 g = 2×10 ⁻⁴ kg		
ŀ				ル	Torr	1 Torr = (101 325/760) Pa		
標	準	大	気	圧	atm	1 atm = 101 325 Pa		
+1	ы		11	_		1 cal=4.1858J(「15℃」カロリー), 4.1868J		
15	Ц		9		cal	(「IT」カロリー), 4.184J(「熱化学」カロリー)		
3	ク			~	u	$1 \mu = 1 \mu m = 10^{-6} m$		