DOI:10.11484/jaea-review-2020-029

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 (委託研究)

- 令和元年度 英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業-

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

-FY2019 Nuclear Energy Science & Technology and Human Resource

Development Project-

福島研究開発部門 福島研究開発拠点 廃炉環境国際共同研究センター 岡山大学

Collaborative Laboratories for Advanced Decommissioning Science Fukushima Research Institute, Sector of Fukushima Research and Development Okayama University P-ROYION

December 2020

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(https://www.jaea.go.jp) 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 $\overline{}$ $\overline{\phantom{a$

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 (委託研究)

- 令和元年度 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 廃炉環境国際共同研究センター

岡山大学

(2020年10月14日受理)

日本原子力研究開発機構(JAEA) 廃炉環境国際共同研究センター(CLADS)では、令和元年度 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はじ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年度に採択された「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」の令和元年度の研究成果について取りまとめたものである。

本研究は、廃炉工程で発生する α ダスト対策に係る被ばく影響評価を目的としている。すでに 先行研究の多い α 線放出核種のラドンを用い、体内で α 線を放出した際に周辺細胞に与える影響 の推定と組織レベル・個体レベルでの生物学的応答を検討する。研究組織の分野横断的な有機的 連携により、α 線放出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。

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、岡山大学が実施した成果を取りまとめたものである。

廃炉環境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

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

(Contract Research)

FY2019 Nuclear Energy Science & Technology and Human Resource Development Project

Collaborative Laboratories for Advanced Decommissioning Science
Fukushima Research Institute, Sector of Fukushima Research and Development
Japan Atomic Energy Agency
Tomioka-machi, Futaba-gun, Fukushima-ken

Okayama University

(Received October 14, 2020)

The Collaborative Laboratories for Advanced Decommissioning Science (CLADS), Japan Atomic Energy Agency (JAEA), had been conducting the Nuclear Energy Science & Technology and Human Resource Development Project (hereafter referred to "the Project") in FY2019.

The Project aims to contribute to solving problems in the nuclear energy field represented by the decommissioning of the Fukushima Daiichi Nuclear Power Station, Tokyo Electric Power Company Holdings, Inc. (TEPCO). 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" conducted in FY2019.

The present study aims to evaluate the influence of radiation exposure to alpha-ray emitting dusts generated in decommissioning of the nuclear reactors. Radon is used here as a surrogate nuclide because it is an alpha-ray emitter and there have been extensive studies on it so far. The effect of alpha-ray emitted from a certain cell on its surrounding cells is estimated, and also biological response to alpha-ray exposure is investigated at the tissue and individual levels. From the obtained results, a model to evaluate the effect of internal exposure to 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 (継続分)	. 2
3.	令和元年度 採択課題	. 5
付銀	禄 成果報告書	. 9
	Contents	
1.	Outline of Nuclear Energy Science & Technology and Human Resource Development Projec	t 1
2.	Accepted Proposal in FY2018 ~Continued~	2
3.	Accepted Proposal in FY2019	5
A nr	nandiv Dagult Danavt	0

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。現:廃炉環境国際共同研究センター)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(令和元年度より新設)に再編した。

2. 平成30年度 採択課題(継続分)

平成30年度採択課題(継続分)については以下のとおりである。

課題数:19課題

共通基盤型原子力研究プログラム 11 課題

(若手研究6課題、一般研究5課題)

課題解決型廃炉研究プログラム 6課題

国際協力型廃炉研究プログラム 2課題

(日英共同研究)

平成30年度 採択課題一覧

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	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
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

共通基盤型原子力研究プログラム

【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
ナノ粒子を用いた透明遮へい材の開発研究	渡邉 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	高エネルギー 加速器研究機構

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

3. 令和元年度 採択課題

令和元年度は、4つの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31年4月24日~令和元年6月7日 令和元年5月30日~令和元年7月18日 ※日露共同研究のみ

· 課題数:19課題

共通基盤型原子力研究プログラム 7課題

(若手研究2課題、一般研究5課題)

課題解決型廃炉研究プログラム 4課題

国際協力型廃炉研究プログラム 4課題

(日英共同研究2課題、日露共同研究2課題)

研究人材育成型廃炉研究プログラム 4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た。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、採択課題を決定した。

令和元年度 採択課題一覧

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
ウラニル錯体化学に基づくテーラーメイド型新規海 水ウラン吸着材開発	鷹尾 康一朗	東京工業大学
動作不能からの復帰を可能とする多連結移動ロボットの半自律遠隔操作技術の確立	田中 基康	電気通信大学

共通基盤型原子力研究プログラム

【一般研究】

課題名	研究代表者	所属機関
一次元光ファイバ放射線センサを用いた原子炉建屋 内放射線源分布計測	瓜谷 章	名古屋大学
低線量・低線量率放射線被ばくによる臓器別酸化ス トレス状態の検討	鈴木 正敏	東北大学
単一微粒子質量分析法に基づくアルファ微粒子オン ラインモニタリングに向けた基礎検討	豊嶋 厚史	大阪大学
幹細胞動態により放射線発がんを特徴付ける新たな 評価系の構築	飯塚 大輔	量子科学技術研究開発機構
耐放射線性ダイヤモンド半導体撮像素子の開発	梅沢 仁	産業技術総合 研究所

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
Multi-Physics モデリングによる福島 2・3 号機ペデスタル燃料デブリ深さ方向の性状同定	山路 哲史	早稲田大学
燃料デブリ取出しに伴い発生する廃棄物のフッ化技 術を用いた分別方法の研究開発	渡邉 大輔	日立 GE ニュークリア・ エナジー
アパタイトセラミックスによる ALPS 沈殿系廃棄物 の安定固化技術の開発	竹下 健二	東京工業大学
拡張型スーパードラゴン多関節ロボットアームによ る圧力容器内燃料デブリ調査への挑戦	高橋 秀治	東京工業大学

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
高い流動性および陰イオン核種保持性を有するアルカリ刺激材料の探索と様々な放射性廃棄物の安全で効果的な固化	佐藤 努	北海道大学
再臨界前の中性子線増に即応可能な耐放射線 FPGA システムの開発	渡邊 実	静岡大学

国際協力型廃炉研究プログラム (日露共同研究)

課題名	研究代表者	所属機関
燃料デブリ取出し臨界安全技術の高度化	小原 徹	東京工業大学
微生物生態系による原子炉内物体の腐食・変質に関 する評価研究	金井 昭夫	慶應義塾大学

研究人材育成型廃炉研究プログラム

課題名	研究代表者	所属機関
燃料デブリ取り出し時における炉内状況把握のため の遠隔技術に関する研究人材育成	淺間 一	東京大学
化学計測技術とインフォマティックスを融合したデ ブリ性状把握手法の開発とタイアップ型人材育成	高貝 慶隆	福島大学
放射線・化学・生物的作用の複合効果による燃料デブ リ劣化機構の解明	大貫 敏彦	東京工業大学
燃料デブリ分析のための超微量分析技術の開発	永井 康介	東北大学

本報告書は、採択課題のうち、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」の令和元年度の研究成果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.

令和元年度

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 31I040)

成果報告書

令和 2 年 3 月 国立大学法人岡山大学

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科学技術・人材育成推進事業」による委託業務として、国立大学法人岡山大学が実施した「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」の令和元年度の研究成果を取りまとめたものです。

目次

概略 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	iv
1. はじめに・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	1
2. 業務計画・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	3
2.1 全体計画 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	3
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
$2.1.2~\alpha$ 線のマイクロドジメトリに関する研究 $\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots$	3
2.1.3 メタボローム解析に関する研究 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	4
2.2 令和元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・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	4
2.2.2 α線のマイクロドジメトリに関する研究····································	5
2.2.3 メタボローム解析に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	5
3. 令和元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
3.1.2 活性酸素種産生,抗酸化機能,DNA 損傷・修復の分析の解析 ··············	9
$3.2~lpha$ 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) $\cdots\cdots\cdots$	26
3.2.1 パラメータの検討・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	26
3.2.2 シミュレーション・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	27
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)	31
3.3.1 ラドンの曝露実験と分析試料の調整 ·····	31
3.3.2 メタボロ―ム解析・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	31
3.4 研究推進 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	37
4. 結言	38

Contents

Abstract ·····	iv
1. Introduction · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	1
2. Project plan·····	. 3
2.1 Overall plan·····	. 3
2.1.1 A study on the production of reactive oxygen species, role of antioxidants, and DNA damage	.3
2.1.2 A study on microdsimetry for alpha ray ·····	. 3
2.1.3 A study on metabolomic analysis ·····	•4
2.2 Goals and implementation in FY2019 ·····	•4
2.2.1 A study on the production of reactive oxygen species, role of antioxidants, and DNA damage	•4
2.2.2 A study on microdsimetry for alpha ray ·····	• 5
2.2.3 A study on metabolomic analysis ·····	• 5
3. Contents and results of the project in FY2019 ·····	.9
3.1 A study on the production of reactive oxygen species, role of antioxidants, and DNA damage	.9
3.1.1 Radon exposure experiment and preparation of samples ·····	.9
3.1.2 Analysis of the reactive oxygen species, antioxidants and DNA damage · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	.9
3.2 A study on microdsimetry for alpha ray (subcontracting institution: JAEA)	26
3.2.1 Consideration of parameters ·····	26
3.2.2 Simulation · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	27
3.3 A study on metabolomic analysis (subcontracting institution: JAEA) ·······	31
3.3.1 Radon exposure experiment and preparation of samples ·····	31
3.3.2 Metabolomic analysis · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	31
3.4 Research Promotion · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	37
4. Conclusion ·····	38

表-	- 覧							
	表 2-1	-	全体計画······	7				
	表 2-2		令和元年度の計画・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	8				
図-	- 覧							
	図 3-1		ラドン曝露試験における肝臓中の 8-0Hd	dG 量の変化特性·····25				
	図 3-2	-	一般的なマクロスケールでの線量評価と	ヒマイクロドジメトリの概念の比較 · · · · 29				
	図 3-3)	/ 分布と z 分布の概念図 ・・・・・・・・・	29				
	図 3-4	F	PHITS で設定した体系 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	$\cdots 30$				
	図 3-5	(60M の構成 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	36				
略語	一覧							
	CAT	:	Catalase	(カタラーゼ)				
	CCI ₄	:	Carbon tetrachloride	(四塩化炭素)				
	CLADS	:	Collaborative Laboratories for Adv	vanced 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)				
	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)				
	LET	:	Linear Energy Transfer	(線エネルギー付与)				
	LP0	:	Lipid peroxide	(過酸化脂質)				
	OGG1	:	8-Oxoguanine DNA Glycosylase	(8-オキソグアニングルコシラーゼ)				
	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	: Phosphate Buffered Saline (リン酸緩衝生理食塩水)						
				(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、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。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 H_2O で満たした細胞を配置して、線源の位置による微小空間の線量不均一性の違いを検討した。

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、 $2,000~Bq/m^3$ または $20,000~Bq/m^3$ を $1\cdot 3\cdot 10~B$ 吸入させた結果、膵臓中の過酸化脂質量は有意に減少、腎臓では増加することがわかった。また、チオール基をもつグルタチオンは他の抗酸化酵素に比べ酸化を受けやすいこともわかった。さらに、DNA の酸化損傷の指標である 8-ヒドロキシデオキシグアノシンは対照群のみ検出できたが、その他の群については検出できないほど少なかった。これは、抽出した DNA 量が少ないことが影響したと考えられた。 $2,000~Bq/m^3$ または $20,000~Bq/m^3$ を $1\cdot 3\cdot 10~B$ 吸入させた結果、脳中の過酸化水素(H_2O_2)量は、 $20,000~Bq/m^3$ の場合、ラドン吸入時間が長くなるにつれ増加する傾向のあることがわかった。他方、肝臓中の H_2O_2 量はラドン吸入時間が長くなるにつれ減少することがわかった。脳や肝臓ではスーパーオキシドディスムターゼ活性とカタラーゼ活性のバランスが変化したためと考えられた。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

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イオウ代謝物に注目し、メタボローム解析を行った。その結果、ラドン吸入によって有意に変化した複数の化合物を検出した。また、本研究のメタボローム解析に有効なデータ解析手法を検討した。網羅的なイオウ代謝物の分析結果を機械学習の一種である自己組織化マップを用い

てクラスタリングしたところ, 曝露条件によるクラスタが見出された。

実験の実施に直接関連のある打合せは全3回行った。特に、実験がスムーズに進行できること、および、得られた結果の情報共有が中心であった。

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核が受ける線量, および, バイスタ ンダー効果などによる周辺細胞への影響を考慮した生物学的効果比(RBE)の定量的算出の検討 をする(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,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:神﨑訓枝(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

本業務の全体計画図を表 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

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 令和元年度

平成 30 年度に得られた結果等を基に、ラドン濃度とラドン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、ラドンに曝露させたマウスの脳・肺・心臓・肝臓・膵臓・胃・腎臓・小腸・大腸・血液を採取する。その後、活性酸素種産生、抗酸化機能の役割、DNA 損傷等を分析するための試料を調整する。

調整した組織からいくつかの組織を使って活性酸素種として生体内で産生された過酸化水素の量を詳細に検討する。また、抗酸化酵素・物質等についても分析する。さらに、平成 30 年度の予備試験で得られたデータ等を基に、DNA 損傷・修復の解析に適した組織を分析する。

2.1.1.3 令和2年度

平成30, 令和元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、令和2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 α 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、令和元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 令和元年度

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 令和2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 $Bq/m^3 \cdot 10$,000 $Bq/m^3 \cdot 100$,000 $Bq/m^3 \cdot 200$,

2.1.3.2 令和元年度

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 令和2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、令和 2 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 令和元年度の成果の目標及び業務の実施方法

本業務の令和元年度計画図を表 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 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。平成 30 年度では,ラドン濃度依存性に ついて検討した。令和元年度では,ラドン吸入時間依存性についても検討する。具体的には,マ ウスにラドンを sham(擬似吸入),2,000 Bq/m^3 , 20,000 Bq/m^3 をそれぞれ $1 \cdot 3 \cdot 10$ 日曝露させ, マウスの脳・肺・心臓・肝臓・膵臓・胃・腎臓・小腸・大腸・血液を採取する。

2.2.1.2 活性酸素種産生. 抗酸化機能. DNA 損傷・修復の分析の解析

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 H_2O_2 の測定を行う。 生体内の H_2O_2 の測定は、0xiSelect^M 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) 、スーパーオキシドディスムターゼ (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。また、肝臓中の DNA の酸化損傷の指標である 8-hydroxy-2' -deoxyguanosine(8-OHdG)と DNA の酸化損傷の修復に関与する 8-Oxoguanine DNA Glycosylase (OGG1) 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 α 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

希ガスであるラドンは、細胞の内外へ侵入すると考えられる。そのため、マイクロドジメトリで用いるパラメータを検討し、PHITS を用い、線源(ラドン)の位置(細胞核・細胞質・細胞外)による微小空間の線量の違いを明らかにすることが目的である。文献調査や予備実験により、細胞の大きさ、形状、構成する物質、その配置、線源のパラメータなどについて検討する。

2.2.2.2 シミュレーション

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。前節で検討したパラメータを参考に、PHITS コードを用い、体系を構築して、 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。y 分布と z 分布を計算することで、それぞれの線源位置による微小空間の線量不均一性の違いを考察する。

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

メタボローム解析の分析試料を得るため、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、マウスにラドンを sham (擬似吸入)、200 $Bq/m^3 \cdot 2000 \ Bq/m^3 \cdot 20000 \ Bq/m^3 をそれぞれ <math>1 \cdot 3 \cdot 10 \ Bq$ となる。

2.2.3.2 メタボローム解析

ラドン曝露による代謝物の変化の検討を目的とし、代謝物の網羅的分析とデータ解析を行う。 代謝物の網羅的分析では、グルタチオンを含むイオウ代謝物に注目したサルファーインデックス 解析を実施し、データ解析では、機械学習(自己組織化マップ)を用い、クラスタリングを行っ て、ラドン濃度と吸入日数による変化を検討する。

表 2-1 全体計画

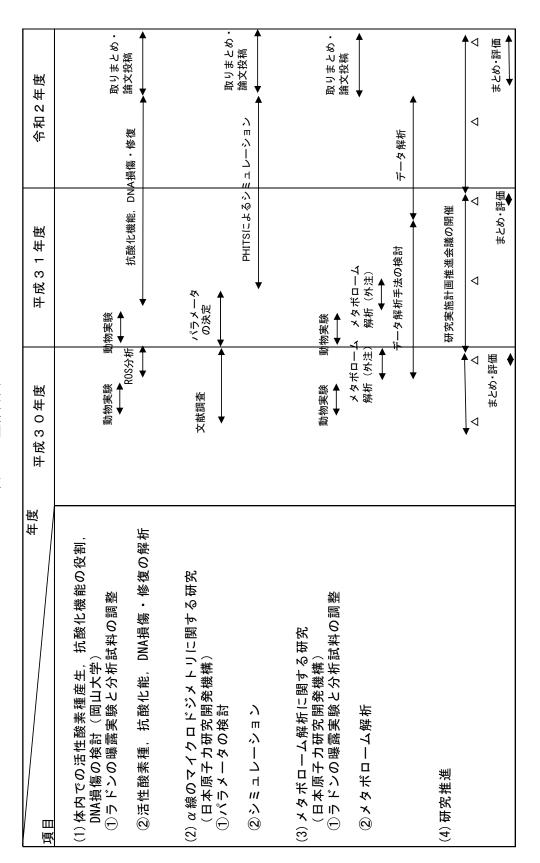


表 2-2 今和元年度の計画

		<u></u>				_	A A 1
月		1				Ţ	
3							まとめ
月							↓
2							
月							◁
1	产					3888	
2 月	復の分	ツ ш ソ			左	の開修	
12	施	1			————————————————————————————————————	# 47 	
1月	NA損(ツ ニ ロ			ーロボ ♥	画	
1	### 	PHITSによるシ		AEV	× ×	研究実施計画推進会議の開催	
0 月	酸化機	HITSE		動物実験	1	母	
10	垂.抗			動	+-	,	
月 (活性酸素種-抗酸化機能・DNA損傷- 修復の分析				· 安	<u> </u>	◁
6	担					1	
月					存録を		
00					 	-	
7 月							
7	↑	\ ;					
6 月		克					
5 月	験	パラメータの決定					٥
	動物実験	~ <u>*,</u>					
4 月	1,001	_	_				
	→		<u> </u>			*	\
施日程	後期,	Ę					
実施	抗酸化機能の役式料の調整	(A), ③ファノ降路夜の沿江欧米性佐土の肝机) α線のマイクロドジメトリに関する研究			No.		
	機調響	# 40 # 40 # 40			調		
	亡酸1 料の ====	翼 翼		死	数 ら		
	<u> </u>	※ こ	無	も	華 古 試		
	単二 大いたい		策	関や	発力機分		
	秦	液	麗	左 こ	開験 北	# #	тı
	性酸氧計	縣 る ロ	中 四	カ を 数	最高 。	1	12 to t
	9日間の1日では、1日には、1日には、1日には、1日には、1日には、1日には、1日には、1日に	Γ	子 十	 	子の「思り」		Tちを
)体内での活性酸素種産生、抗酸化機制 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	う で の	(日本原子力研究開発機構	を ボ	(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のコカボコー , 2014	のメダバローム群の) 母兇推進	研究打ち合わせ
項目	(1)体内での活性酸素種産生. DNA損傷の検討(岡山大学 ①ラドンの曝露実験と分析	②ファノ嗪略及の治性酸素性性生の肝(3)α線のマイクロドジメトリに関する研究	<u>ш</u>	(3)メタボローム解析に関する研究	— Ш ID 3	(4) 母究推進	中
西	(1	8				<u> </u>	

- 3. 令和元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

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 $1^{-3)}$ 。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。本実験で用いたラドン曝露装置は、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。ラドン源は天然土壌(約 $100~\mathrm{kg}$)をステンレス製容器(約 $120~\mathrm{L}$)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(2^{22} Rn、半減期 $3.82~\mathrm{H}$)と混在する同位体のトロン(2^{20} Rn、半減期 $55.6~\mathrm{t}$)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 $14~\mathrm{L}$)で、曝露試験中には適切な回数の換気が維持される。なお、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。昨年度、マウスケージ内のラドン濃度について種々検討した。その成果を踏まえ、今年度はラドン濃度を $2,000~\mathrm{Bq/m}^3$ $20,000~\mathrm{Bq/m}^3$ $20,000~\mathrm{Bq/m}^3$

3.1.1.2 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 2,000 Bq/m³ または 20,000 Bq/m³ を $1 \cdot 3 \cdot 10$ 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・膵臓・胃・腎臓・小腸・大腸・血液を採取した。これらの試料は-80 $^{\circ}$ $^{\circ}$ にて凍結保存した。

- 3.1.2 活性酸素種産生, 抗酸化機能, DNA 損傷・修復の分析の解析
- 3.1.2.1 抗酸化機能, DNA 損傷・修復の分析の解析
- 3.1.2.1.1 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 4 。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

逼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 50 。 さらに、肝臓中のグルタチオン(GSH)量は低線量 γ 線照射により増加することも報告されている 60 。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 ^{7,8)}。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 9 または四塩化炭素($^{\circ}$ に間違い、誘導肝障害 10 は、各々投与前に低線量 $^{\circ}$ 級照射することにより抑制された。これは、低線量 $^{\circ}$ 級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 $^{\circ}$ $^{\circ$

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 14)、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 15)、1 型糖尿病 16)、虚血-再灌流障害に伴う浮腫 17 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 $^{18)}$ 。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 $^{19)}$ 。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 20 。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 21 。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 $^{22)}$ 。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 $^{23)}$ 、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 $^{24)}$ 、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 $^{25)}$ 。

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²⁶⁾など)、呼吸器疾患(気管支喘息²⁷⁾、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²⁶⁾。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。

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 $1\sim2$ 日後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 (O₂⁻) 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, 一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 300。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 CC1₄ 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 y 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細胞の萎縮が抑制され、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、 $CC1_4$ 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/m^3 または 2,000 Bq/m^3 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/m^3 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 $^{31)}$ 、 $CC1_4$ 誘導マウス腎障害の場合は 2,000 Bq/m^3 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/m^3 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 $^{47)}$ 。ラドンは希ガスで化学的に不活性なため,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 ぞれ主に 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 $Bq/m^3 \cdot 10,000 Bq/m^3$ 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・膵臓・胃・腎臓・小腸・大腸・血液を採取した。その結果、ラドン吸入に より肝臓中と心臓中の 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 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。そこで、令和元年度は、ラドン吸入による酸 化ストレスの吸入時間依存性について検討した。

3.1.2.1.2 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-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 ℃で遠心分離し, 上清を BIOXYTECH LPO-586 Assay Kit (0xis 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⁴⁹⁾。キサンチンオキシダ ーゼ(XOD)によって生成された O2-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 0_2 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 0_2 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 $^{\circ}$ C、 10、000 $^{\circ}$ 8、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 H_2O_2 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 $^{\circ}$ C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 30 μ L にトリクロロ酢酸 60 μ L 加え,遠心分離 (4 \mathbb{C} , 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 $^{50)}$ 。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。

8-OHdG の分析のため、まず、DNeasy® Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) を用い、肝臓のサンプルから DNA を抽出した。20-25 mg の肝臓に ATL バッファーを加えてホモジナイズした後に 20 μ L の proteinase K を加えた。抽出は取り扱い説明書に従い実施した。 DNA 濃度は nanodrop を用いて測定し、-80 ℃で凍結保存した。次に、8-OHdG 分析のための前処理は、肝臓サンプルの DNA 濃度が同じになるように希釈した後に、8-OHdG 測定前処理試薬セット(富士フィルム和光純薬、大阪)を用いて行った。得られたサンプルを、New 8-OHdG Check キット(日本老化制御研究所、静岡)を用いて 8-OHdG 濃度を測定した。

0GG1 は,肝臓 50 mg に対し 150 μ L の Radioimmunoprecipitation 溶液を入れてホモジナイズ した。これを氷上で 30 分間インキュベートした後,遠心分離(4 $^{\circ}$ C,10,000rpm,10 分)を 2 回 繰り返した。この上清のタンパク濃度を,Lowry 法を用いて分析した。全てのサンプルのタンパク濃度が同じになるよう希釈し,サンプルバッファーと 2-メルカプトエタノールを加え,100 $^{\circ}$ C

で3分間インキュベートした。得られたサンプルは-80℃で凍結保存した。

3.1.2.1.3 統計処理

各測定値は、関係図表中に平均値 (Mean) ±標準誤差 (SEM) で表した。多重比較のために Games. Howell の検定を用いた。P値はP<0.05の際に有意差ありとした。

3.1.2.1.4 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 51 。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 52 ,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 53 。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 4 ,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 54 。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。

一般的に、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_2 を H_2O_2 に不均化する酵素である。 H_2O_2 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、 H_2O_2 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。

8-OHdG は DNA の酸化損傷の指標として用いられている。例えば,C 型肝炎 $^{55)}$,非アルコール性脂肪肝炎 $^{56)}$ 患者では肝臓中の 8-OHdG の発現は亢進することが報告されている。我々は,今までにラドン吸入により抗酸化機能が亢進することを示唆してきたことから,ラドン吸入は肝臓中 DNA 損傷を軽減すると考えられた。そこで,本研究では,肝臓中の 8-OHdG の分析をした。その結果,8-OHdG は対照群のみ検出できたが,その他の群については検出できなかった(図 $^{3-1}$)。すなわち,本実験条件下でのラドン吸入により肝臓中の 8-OHdG が減少した可能性が推察されるが,本実験で抽出した DNA 量は,8-OHdG の分析に十分な量ではなかった可能性もあることから,今後さらなる検討が必要である。

3.1.2.1.5 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。さらに、DNA の酸化損傷の指標である 8-0HdG は対照群のみ検出できたが、その他の群については検出

できないほど少なかったが、抽出した DNA 量が少ないことが影響したと考えられた。

3.1.2.2 ラドン曝露後の活性酸素種産生の解析

3.1.2.2.1 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 0_2 を消去する SOD、同じく ROS である H_2O_2 を消去する CAT、 H_2O_2 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 57)。例えば,LET の大きい場合, H_2 や H_2 0 $_2$ 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 58),直接測定することは難しい。 H_2 0 $_2$ 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 59 。したがって,本研究課題では,ラドン吸入後の各組織の H_2 0 $_2$ 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。

 H_2O_2 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, H_2O_2 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 $^{60)}$,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 H_2O_2 に対しては GPx が,高濃度の H_2O_2 に対しては CAT により消去されると報告されている $^{61)}$ 。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 $^{62)}$ 。高圧酸素下,ビタミン E 欠乏動物の肝や肺で生成した H_2O_2 のほとんどは GSH,GPx によって消去され $^{63)}$,キサンチンーキサンチンオキシダーゼ系で O_2 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 64 。

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 $^{65)}$ 。したがって、ラドン吸入後の各臓器の H_2O_2 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。 平成 30 年度では、 $1,000~Bq/m^3$ または $10,000~Bq/m^3$ を 1 日吸入させた場合の各組織中の H_2O_2 量を測定した。その結果、肝臓と肺中の H_2O_2 量が約 20% 増加することがわかった。しかし、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 H_2O_2 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 H_2O_2 量は約 20%減少した。これは、t – GSH により H_2O_2 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。そこで、令和元年度は、ラドン吸入時間を変化させた場合の各組織中の H_2O_2 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。

3.1.2.2.2 ラドン吸入

実験動物およびラドン吸入方法は3.1.1.2と同様であるため、省略する。

3.1.2.2.3 分析方法

 H_2O_2 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 $^{\circ}$ C,10,000×g,5 分)した上澄み液を供した。測定は OxiSelect $^{\odot}$ 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 H_2O_2 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 540 nm の波長により得られた吸光度は, H_2O_2 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 H_2O_2 の吸光度を測定し,横軸を H_2O_2 濃度,縦軸を吸光度とした検量線を作成した。各組織の H_2O_2 量はこの検量線を用いて求めた。

3.1.2.2.4 統計処理

統計処理の方法は3.1.2.1.3と同様であるため、省略する。

3.1.2.2.5 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 H_2O_2 量の吸入時間依存性について検討した。その結果、ラドンを 1 日吸入した場合の脳中の H_2O_2 は有意に増加した。他方、ラドン吸入時間が長くなるにつれ、 H_2O_2 量が増加する傾向のあることがわかった。また、肝臓中の H_2O_2 量はラドン吸入時間が長くなるにつれ減少することがわかった(データ非公開)。SOD はスーパーオキサイドを不均化し、 H_2O_2 を産生する。他方、 H_2O_2 は CAT などにより分解される。すなわち、脳や肝臓では SOD と CAT のバランスが変化したためと考えられた。しかしながら、他の臓器では統計学的に有意な変化はみられなかったことから、本実験条件でのラドン曝露は H_2O_2 産生に影響を与えないことが示唆できた。

3.1.2.2.6 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 H_2O_2 の産生量のラドン吸入時間依存性について検討した。ラドン吸入時間が長くなるにつれ増加する傾向のあることが示唆できた。他方、肝臓中の H_2O_2 量はラドン吸入時間が長くなるにつれ減少することが示唆できた。脳や肝臓では SOD と CAT のバランスが変化したためと考えられた。

3.1.2.3 文献調査

3.1.2.3.1 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リスクについて文献調査し、ラドン曝露との違いについて調査した。以下、調査した文献について紹介する。

3.1.2.3.2 プルトニウムによる肺がんリスクのマイクロドジメトリ的観点からの検討 66)

この論文では、正確な線量評価を目的としたマイクロドシメトリの必要性についてまとめられている。プルトニウムの肺がんリスク評価における線量とは何かが課題となっておりマイクロドシメトリの観点で検討した報告が多数ある。以下に関連研究をまとめる。

① ロシアのチェルノブイリ近郊のマヤック原発の労働者のデータでは、線量増加に比例して肺

がんリスクがしきい値なしに上昇している ⁶⁷⁾。しかし、他の報告ではしきい値ありとしている。

- ② 二酸化プルトニウムと硝酸プルトニウムの両方を吸入したビーグル犬の寿命調査では、 239 Pu $_0$ 2微粒子を吸入したイヌにおける肺腫瘍の発生率は、約80 cGy の線量に達するまで対照イヌと有意差は認められなかった 68 。
- ③ 太平洋北西国立研究所で行われた調査では、約 1Gy 未満の肺線量では生存期間の減少がなく、約 0.6Gy 未満では肺腫瘍誘発の有意な増加がなかった。マイクロドシメトリによる分析では、約 1Gy でしきい値が見出される可能性を示唆した ⁶⁹⁾。

吸入したプルトニウムは臓器内で局在的に分布するため、エネルギー分布が不均一となる。すなわち、局在的な影響を臓器全体に平均して "線量" としてみなすことは、被ばくの影響に対して誤解を招く可能性がある。また、肺などの間質と実質をもつ混成臓器では被ばく線量が必ずしも正しいとは限らないとも指摘されている 70 。現在プルトニウムの内部被ばくの算定方法は数理モデルが主流であり、プルトニウムの肺がんリスクを評価する際には、肺内の α 粒子線量パターンの不均一性の程度を考慮する必要がある。これらは本受託研究で用いたラドンと共通する点であり、類似性のあることがわかった。

3. 1. 2. 3. 3 ²³⁹Pu, ²³⁷Np または ²²²Rn の曝露したラットの肺腫瘍の Tp53 遺伝子突然変異に関する 研究 ⁷¹⁾

この論文では,腫瘍関連遺伝子である Tp53 と α 線放出核種の吸入曝露による肺がんの関連について,特に,Pu 誘導肺腫瘍,Np 誘導肺腫瘍および Rn 誘導肺腫瘍での Tp53 の変異の差異について検討した。その結果,突然変異の頻度は,Pu 誘導肺腫瘍では 13%,Np 誘導肺腫瘍では 5%であるが,Rn 誘導肺腫瘍では 0%であると計算された。Tp53 変異が肺腫瘍の発症に重要な役割を果たしているかどうかを判断するのに十分なサンプル数ではないものの,Tp53 遺伝子変異の存在および頻度が腫瘍ごとで異なり,Tp53 遺伝子の異常は,内因的なメカニズムに重要な役割を果たす可能性が示唆された。

3.1.2.3.4 酸化プルトニウムまたは X 線照射によるラット肺腫瘍の比較 ⁷²⁾

本論文では、 α 線を放出する 239 Pu $_{02}$ エアロゾルの吸入曝露、並びに全身、胸部 X 線照射を行い、雌 Wistar ラットにおける放射線誘導肺がん発生を比較し内部被ばくが肺がん発生に与える影響について報告した。生後 $100\sim120$ 日齢の雌 Wistar ラットに、 239 Pu $_{02}$ エアロゾルを $5\sim60$ 分間吸入させ、ホールボディカウンタで 7 日間測定した。また、ラットに線量率 0.1 Gy /分の全身分割照射を行い、 $0.5\sim10$ Gy の累積線量とした。その結果、ラット生存率の減少は、0.45 Gy 以上で悪性肺腫瘍の増加と相関関係にあり、 239 Pu に曝露されたラットでは $6.6\sim8.5$ Gy で 90%まで達した。肺がんの線量曲線を比較したところ、肺がんの 50%の発生率に対する効果比および近似曲線の傾きは、 239 Pu $_{02}$ エアロゾルの吸入曝露が胸部 X 線照射の約 11 倍であった。がんを発症したラット 1 匹あたり肺に分布する腫瘍病変の数は 239 Pu 曝露ラットで X 線照射ラットよりも約 2 倍多かったが、病理組織型の割合は 239 Pu 曝露と X 線照射では違いがなかった。これらの結果より、肺の発がんの効果比またはリスクは 239 Pu 曝露の方が X 線照射より大きいことが示唆された。

3.1.2.3.5 酸化プルトニウムのエアロゾルの吸入により誘導されたラット肺腫瘍と X 線により誘導されたラット肺腫瘍の細胞起源に関する免疫組織学的研究 73)

本論文では ²³⁹PuO₂ エアロゾルの吸入曝露または X 線照射によって肺腫瘍を誘発させ、放射線誘 導肺腫瘍では Clara 細胞が関与するのかを検討した。抗原を有する細胞の形態を観察する方法と して抗原抗体反応を利用して、抗原物質の局在やそれを発現する細胞要素を可視化する免疫組織 化学的検査を用いて、ラットの放射線誘導肺腫瘍の危険性がある標的細胞の同定を行った。生後 100~120 日齢の雌 Wistar ラットに, ²³⁹PuO₂エアロゾルの吸入曝露または X 線照射をした。²³⁹PuO₂ エアロゾルは、30~3000 Bq の初期肺沈着量と 0.5~12 Gy の平均吸収肺線量となるように吸入さ せた。X線照射については、線量率0.1 Gy /分の全身分割照射または線量率0.6 Gy /分の肺への 局所単一照射を行い, 0.5~10 Gy の累積線量とした。Pu 誘発性肺腫瘍と X 線誘発性肺腫瘍の両 方が、病理組織学的に腺腫、腺癌、扁平上皮癌、および扁平上皮癌と診断された。腫瘍性病変の 免疫組織化学的染色を行った結果,²³⁹PuO₂ 曝露, X 線照射ともに, 腺腫および腺癌病変が多く見 られたが、腺扁平上皮病変と扁平上皮病変は、どちらの群も陰性であった。Pu および X 線誘導の 腫瘍や非放射線誘導腫瘍で免疫反応性細胞の割合や分布に多少の違いは見られたが、放射線誘導 肺腺腫および腺癌の大部分に肺胞 II 型肺細胞または細気管支に由来することを示す Clara 細胞 の関与が明らかになったと結論づけた。また、腺扁平上皮癌および扁平上皮癌では、他の上皮細 胞成分に由来する可能性があり、またはそれらの形質転換分化中に特異的抗原性を失っている可 能性があることが示唆された。

3.1.2.3.6 二酸化プルトニウムのエアロゾル吸入によるビーグル犬の原発性肝癌 ⁷⁴⁾

本論文では、ビーグル犬に 238 Pu $_{02}$ 粒子を曝露し肺、肝臓および骨における放射線誘導がんについて長期間吸入での影響を検討した。 168 匹のビーグル犬に 238 Pu $_{02}$ 粒子を曝露し、肺、肝臓および骨の組織学的解析を行った。 238 Pu $_{02}$ エアロゾル吸入したビーグル犬に、原発性肝腫瘍が生じたことがわかった。気道への 238 Pu $_{02}$ の初期沈着のみならず、 238 Pu $_{02}$ の一部が肝臓および骨格に転移したことから、肺、肝臓、および骨格に腫瘍のリスクが生じることを示唆した。 238 Pu $_{02}$ の曝露を受けた 144 匹の犬のうち、 238 Pu $_{02}$ の曝露開始から 4000 日以降に 112 匹が死亡し、 100 匹が骨肉腫、 28 匹が肺がんを発症した。曝露後の時間が増すにつれて、肝臓の病変はより顕著となった。曝露開始から 4000 日前に死亡した犬のうち 9 匹の犬に、 10 個の原発性肝腫瘍が発見された。曝露開始から 4000 日以降に死亡した 9 匹の犬のうち 3 匹では 15 個の原発性肝腫瘍が発生した。これらの腫瘍の大部分は線維肉腫であった。しかしながら、肝腫瘍は死因ではなく、転移はなかった。このことから、肝臓は、 238 Pu 吸入後長期にわたってがん発症のリスクのあることを示唆した。

3.1.2.3.7 まとめ

本年度では、主に 239 Pu $_{02}$ 曝露による肺への影響を中心に文献調査をした。その結果、肺の発がんリスクは 239 Pu 曝露の方が X 線照射より大きいことが示され、プルトニウム曝露は X 線よりもリスクの高い可能性が示唆された。また、十分なサンプル数でないものの、突然変異の頻度は Pu 誘導肺腫瘍では 13%、Np 誘導肺腫瘍では 5%であるが、Rn 誘導肺腫瘍では 0%であると計算されたが、リスクの推定に必要な線量の評価が十分でないことから、ラドンとプルトニウムのリスクの比較にはさらなる文献調査が必要と考えられた。

参考文献

- 1) 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.
- 2) Y. Ishimori, F. Mitsunobu, K. Yamaoka, H. Tanaka, T. Kataoka, A. Sakoda. "Primary Functions of the First Japanese Large-Scale Facility for Exposing Small Animals to Radon" Jpn. J. Health Phys. 45: 65-71, 2010.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) 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 General Subjects 1381: 265-270, 1998.
- 6) 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 General Subjects 1381: 312-318, 1998.
- 7) B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge. Free Radicals in Biology and Medicine, Second Ed., Clarendon Press, Oxford. 1989.
- 8) H. Sies, ed. "Oxidative Stress Oxidants and Antioxidants" Academic Press, London, 1991.
- 9) 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.
- 10) 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.
- 11) 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.
- 12) T. Nomura, K. Yamaoka. "Low-dose γ -ray irradiation reduces oxidative damage induced by CCl₄ in mouse liver" Free Radic. Biology and Medicine 27: 1324-1333, 1999.
- 13) 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.
- 14) 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.

- 15) 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.
- 16) 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.
- 17) 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.
- 18) 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.
- 19) 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.
- 20) 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.
- 21) 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.
- 22) 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.
- 23) 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.
- 24) 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.
- 25) 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.
- 26) 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.
- 27) 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.
- 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.
- T. Kataoka, Y. Nishiyama, T. Toyota, M. Yoshimoto, A. Sakoda, Y. Ishimori, Y. Aoyama,T. Taguchi, K. Yamaoka. "Radon inhalation protects mice from carbon-tetrachloride-induced 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.
- 41) 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- κ B 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) 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.
- 50) 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.
- 51) 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.
- 52) 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.
- 53) 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.
- 54) KM. Ahmed, JJ. Li. "NF- κ B-mediated adaptive resistance to ionizing radiation" Free Radic. Biol. Med. 44: 1-13, 2008.
- 55) N. Fujita, R. Sugimoto, N. Ma, H. Tanaka, M. Iwasa, Y. Kobayashi, S. Kawanishi, S. Watanabe, M. Kaito, Y. Takei. "Comparison of hepatic oxidative DNA damage in patients with chronic hepatitis B and C" J. Viral. Hepat. 15: 498-507, 2008.
- 56) S. Seki, T. Kitada, T. Yamada, H. Sakaguchi, K. Nakatani, K. Wakasa. "In situ detection of lipid peroxidation and oxidative DNA damage in non-alcoholic fatty liver diseases" J. Hepatol. 37: 56-62, 2002.
- 57) 大野新一. "水の放射線分解による水素の生成" RADIOISOTOPES 29: 401-408, 1980.
- 58) 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.
- 59) 小林一雄. "活性酸素の寿命とその生理的意義",活性酸素(中野稔ほか編),共立出版,東京, 26-31,1988.
- 60) 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.
- 61) L. Flohé, I. Brand. "Kinetics of glutathione peroxidase" Biochim. Biophys. Acta Enzymol. 191: 541-549, 1969.
- 62) 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.
- 63) 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.
- 64) B. Halliwell, JM. Gutteridge. "Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease" Biochem. J. 219: 1-14, 1984.
- 65) 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.
- 66) J.A. Simmons. "Microdosimetric considerations of lung cancer risks from plutonium" Health Phys. 108: 377-379, 2015.
- 67) E. S. Gilbert, M. E. Sokolnikov, D. L. Preston. Schonfeld SJ, Schadilov AE, Vasilenko EK, Koshurnikova NA. "Lung cancer risks from plutonium: an updated analysis of data from the Mayak Worker Cohort" Radiat. Res. 179: 332-342, 2013.
- 68) D.R. Fisher, R.E. Weller. "Carcinogenesis from inhaled ²³⁹PuO₂ in beagles: evidence for radiation homeostasis at low doses?" Health Phys. 99: 357-362, 2010.
- 69) ICRP. Recommendations of the International Commission on Radiological Protection.
 Oxford, Pergamon Press, 1977.

- 70) C.L. Sanders, K.E. Lauhala, K.E. McDonald. "Lifespan studies in rats exposed to 239 Pu $_{02}$ aerosol. III Survival and lung tumors" Int. J. Radiat. Biol. 64: 417-430, 1993.
- 71) Y. Yamada, Y. Oghiso, J. Morlier, K. Guillet, P. Dudoignon, G. Monchaux. "Comparative Study on Tp^{53} Gene Mutations in Lung Tumors from Rats Exposed to ²³⁹Pu, ²³⁷Np and ²²²Rn" J. Radiat. Res. 45: 69-76, 2004.
- 72) Y. Oghiso, Y. Yamada. "Comparisons of Pulmonary Carcinogenesis in Rats Following Inhalation Exposure to Plutonium Dioxide or X-ray Irradiation" J. Radiat. Res. 44: 261-270, 2003.
- 73) Y. Oghiso, Y. Yamada. "Immunohistochemical study on cellular origins of rat lung tumors induced by inhalation exposures to plutonium dioxide aerosols as compared to those by X-ray irradiation" J. Radiat. Res. 43: 301-311, 2002.
- 74) N. A. Gillett, B. A. Muggenburg, J. A. Mewhinney, F. F. Hahn, F. A. Seiler, B. B. Boecker, R. O. McClellan. "Primary liver tumors in beagle dogs exposed by inhalation to aerosols of plutonium-238 dioxide" Am. J. Pathol. 133: 265-276, 1988.

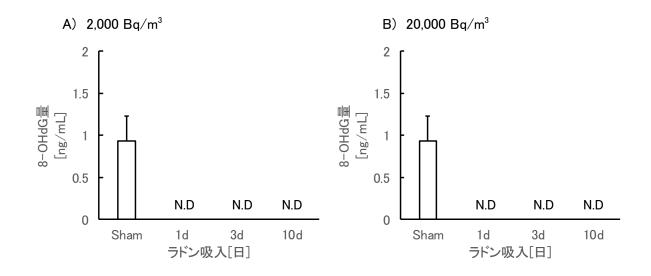


図 3-1 ラドン曝露試験における肝臓中の 8-0HdG 量の変化特性 Mean±SEM, N=6

3.2 α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

文献調査や予備実験で得られた情報を基に、マイクロドジメトリの計算に必要となるパラメータを設定した。

3.2.1.1 ラドン吸入による α 線のマイクロドジメトリに関する検討

放射線の生体に対する作用には「質量当りに吸収されるエネルギーの総量 Gy (J/kg)」や「単位距離あたりの平均付与エネルギーを表す LET ($keV/\mu m$)」が用いられるが、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、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り「ある反応を起こすのに必要な吸収線量の比 RBE」が定義された。ただし、高エネルギー荷電粒子では、同じ LET を持つ低エネルギー荷電粒子と比べて細胞スケールのミクロな視点で見た場合にその飛跡周辺の電離密度が低くなるため、一般的な RBE では正確に表現できないという問題があった。一般的なマクロスケールでの線量評価では、広い範囲で実際にエネルギーが沈着していない部分も含めた線量評価となるのに対し、マイクロドジメトリでは、微小領域ごとに実際にエネルギーが沈着した部分を評価できる(図 3-2)。微小領域に付与されるエネルギー分布を計算するマイクロドジメトリを用いることで、放射線の違いによる細胞スケールで見た際のトラック構造の違いを考慮した RBE の推定が可能になる 10。

マイクロドジメトリに用いる物理量としては微小空間におけるエネルギー密度を考慮した「 μ m オーダーでの単位距離当たりの線エネルギー(Lineal Energy, y)」や「 μ m オーダーでの質量当たりの比エネルギー(Specific Energy, z)」がある。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,y分布やz分布は図3-3で示した式で算出される。ここで,y は線エネルギー,z は比エネルギー, ϵ 'は1回のエネルギー沈着事象での付与エネルギー, ϵ は微小領域への付与エネルギーの和,d は微小領域の平均弦長,m は微小領域の質量である。図中の点線で囲んだ部分は,それぞれの値を得るのに考える微小領域を示している。

ラドンの体内動態については、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、 $0.04\sim1.4$ nGy/(Bq/m^3)/day であることを報告した 2)。また、マウスに 2,000 Bq/m^3 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 3)。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。

希ガスであるラドンは、細胞外から細胞内へ侵入すると考えられる。そこで、本研究では、PHITS を用い、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、平成 30 年度は細胞の大きさによる y 分布と z 分布の差を検討した。本年度は、 α 粒子が様々な位置(細胞核・細

胞質・細胞外)から放出されるパターンについて、線源の位置による両分布の差を検討した。

3.2.1.2 検討したパラメータ

マイクロドジメトリの計算に必要となるパラメータを検討した。標準的な細胞として,大きさと形状を半径 11 μ m の球体とし,既存のマイクロドジメトリの研究にならい,生体を構成する主な物質 H_2 0 で細胞内外を満たすこととした。細胞核を細胞中央に半径 5 μ m の球体で配置し,厚さ 5 μ m の細胞質と厚さ 1 μ m の細胞膜で包み込むこととした。また,この α 線の沈着エネルギーを全て把握するため, α 線のトラックよりも広い範囲で細胞を三次元的に並べることとした。線源として設定するラドン(222 Rn)は,ウラン系列に属する。 222 Rn は半減期およそ 3.8 日でおよそ 5.5 MeV の α 線を放出する。娘核種に関しては,ラドンの生物学的半減期がおよそ 30 分程度であることから,半減期が 22.2 年である 214 Pb より上流の核種のみ考慮することとした。

3.2.2 シミュレーション

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った。前節で述べたように、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した。PHITS 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、それぞれで線源の位置による微小空間の線量不均一性の違いを考察した 4 。

3.2.2.1 方法

y分布とz分布を計算した体系は、3.2.1.2節で述べた通り、細胞を直径 $11~\mu$ mの球体とし、 $11\times11\times11$ の格子構造の立方体に収まるよう細胞同士を隣接させ、 H_2 0 を満たして三次元的に並べた。細胞核は、細胞中央に半径 $5~\mu$ mの球体で配置し、厚さ $5~\mu$ mの細胞質と厚さ $1~\mu$ mの細胞膜で包み込んだ(図 3–4)。

線源は、中央の立方体の中にラドン(222 Rn)があり、子孫核種と放射平衡にある状態を想定した。すなわり、 222 Rn、 218 Po、 214 Po が放出する α 線を線源とした。 222 Rn、 218 Po、 214 Po の α 線の飛程は最大でも 70 μ m 以下であるため、中央にある線源から細胞 3 個分離れた細胞核までしか α 線は到達しない。そこで、細胞を $11\times11\times11$ の格子状に並べ、 α 線の沈着エネルギーを十分に全て把握できる体系とした。

ターゲットを細胞核として、細胞核内の沈着エネルギーについて、線源からの距離でグループ分けを行い、グループ毎での y 分布と z 分布を計算した。グループは図 3-4 に示したように(x, y, z)座標で示すと、線源を含む中央(0, 0, 0)内の細胞核が Group1, 1 つ外側の 26 個の(1, 0, 0)(0, 1, 0)(0, 0, 1)(-1, 0, 0)(0, -1, 0)(0, 0, -1)(1, 1, 0)(-1, 1, 0)(1, -1, 0)(1, 0, 1)(1, 0, 1)(1, 0, 1)(0, 1, 1)(0, 1, 1)(0, 1, 1)(1, 1,(1, 1

PHITS の標準機能により、微小領域の半径を 10 μm (細胞核 1 個分) とし、z の Specific Energy [MeV] の確率密度分布を計算した。

3.2.2.2 y 分布の結果

y 分布の計算結果では、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(データ非公開)。

3.2.2.3 まとめ

マイクロドジメトリに向けた PHITS による体系構築とシミュレーションを行った。本実験では、y分布とz分布の違いについては、微小領域の範囲が10 倍違うため、直接的な比較はできない。しかしながら、ラドン吸入に伴う内部被ばくについて、ターゲットである細胞核の沈着エネルギーの確率分布は、y分布とz分布のそれぞれで、線源の位置によって差があることを明らかにした。今後は、これまでの知見もふまえ、細胞の大きさ、線源の位置による差についてまとめ、マイクロドジメトリの観点から α 線被ばくの影響を考察したい。

参考文献

- 1) International Commission on Radiation Units and Measurements, Microdosimetry, ICRU Report 36, 1983.
- 2) 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) T. Kataoka. "Study 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.
- 4) T. Sato, Y. Iwamoto, S. Hashimoto, T. Ogawa, T. Furuta, S. Abe, T. Kai, P. Tsai, N. Matsuda, H. Iwase, N. Shigyo, L. Sihver, K. Niita. "Features of Particle and Heavy Ion Transport Code System (PHITS) version 3.02", J. Nucl. Sci. Technol. 55: 684-690, 2018.

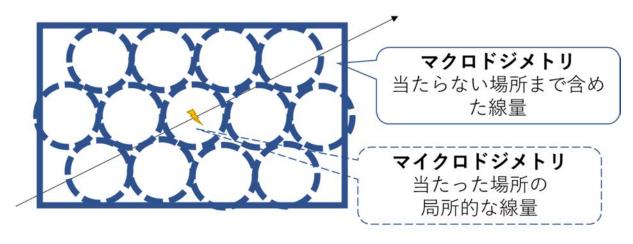


図 3-2 一般的なマクロスケールでの線量評価とマイクロドジメトリの概念の比較

矢印が放射線のトラックを表し、図の中央でエネルギーが付与されたことを示している。このとき、実戦で囲んだ部分がマクロな領域で評価する概念を表しており、点線で囲んだ部分がミクロな領域で評価するマイクロドジメトリでの概念を表している。

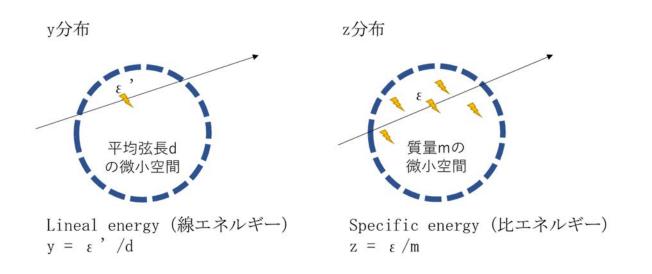


図 3-3 y 分布と z 分布の概念図

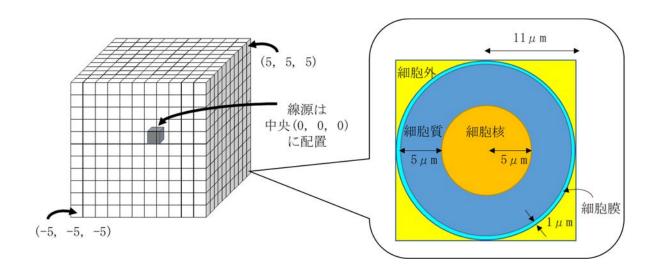


図 3-4 PHITS で設定した体系

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

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、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、サンプルを採取した。採取した分析サンプルは凍結保存した。

3.3.1.1 メタボローム解析のための分析サンプルの準備

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 11 。他方,我々はこれまで,マウス生体内でのラドンの体内動態を報告してきた 21 。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 11 森を放出し,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 12 。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- 11 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 12 。そこで,本研究では,ラドン吸入による脳中の抗酸化物質グルタチオンの合成に関する代謝物に注目した。

マウスへのラドン吸入実験では、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、1群の匹数は7匹として、新鮮空気(sham(対照))、ラドン 200 Bq/m³、2,000 Bq/m³、20,000 Bq/m³をそれぞれ1日間・3日間・10日間曝露した。分析サンプルは、炭酸ガスの過剰吸入により安楽死させて心臓からの採血で脱血した後、脳を速やかに蒸留水で軽く洗って水気をふき取って液体窒素で急冷し、分析までの間、-80 ℃で冷凍保存した。肝臓も予備試験のため同様の処理を施した。

3.3.2 メタボローム解析

上記で得られた分析サンプルを用い、メタボローム解析を行った。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した。

3.3.2.1 メタボローム解析とは

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。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、比較的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 6)、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、どのよう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、機械学習(自己組織化マップ)によるデータ解析を行った。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、新鮮空気(sham(対照))、200 Bq/m³、2,000 Bq/m³、20,000 Bq/m³ のラドンをそれぞれ 1 日間・3 日間・10 日間曝露させた各群 7 匹のマウスの脳と肝臓を採取した。

②サンプルの調整

脳組織または肝臓組織に、5 μ L/mg の割合で内部標準物質を含むメタノール抽出液を加え、ペッスルですり潰し、遠心分離(15,000 rpm、3 分間、4 $^{\circ}$ C)を行って上澄み 100 μ L を採取した。イオウ化合物標識試薬等を計 30 μ L 添加して懸濁後、遠心分離(15,000 rpm、3 分間、4 $^{\circ}$ C)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(15,000 rpm、3 分間、4 $^{\circ}$ C)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イオウ化合物は、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) を用いて分析した。

④データの取得

サルファーインデックス分析において検出されたイオウ関連化合物の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データ解析を実施した。本ラドン吸入実験では、ラドン 200 Bq/m³, 2,000 Bq/m³, 20,000 Bq/m³ をそれぞれ 1 日間・3 日間・10 日間行った。新鮮空気(sham(対照))群と 9 つのラドン曝露群で、各群 6 匹使用し、サンプル数は 6 匹× 10 群= 60 検体となった。

④のサルファーインデックス分析の結果,27種類の化合物が検出され,データ解析に使用するデータは,27次元を持った60個のデータとなった。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。

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

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。

古典的な統計手法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。

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3-5)。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 $\alpha(t)$ 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、ヘルシンキ工科大学 Laboratory of Computer and Information Science (CIS) から提供されているフリーソフトである SOM_PAK (http://www.cis.hut.fi/research/som_lvq_pak.shtml) を用いた。競合層のユニット数は経験的に設定し、縦横 30×20 の 600 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、近傍半径はユニット 30 個分とし、マップ全体が十分に含まれるように設定した。学習率は 0.5、学習回数は 100,000 回と設定した。SOM の出

カマップには、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。データの乖離度を濃淡で表し、黒いユニットはデータの隔たりを表現している。また、出力マップ上の各代謝物の変化を濃淡で確認できるコンポーネントマップも出力した。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、計算を複数回行い、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。

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で代謝物がどのように変化するか情報抽出した。

論文投稿予定のため結果の一部を省略させていただいた。

3.3.2.3 サルファーインデックス分析で得られた結果

サルファーインデックス分析を行った結果,マウスの脳組織から 27 種類のイオウ代謝物が検出された(データ非公開)。ダネット法を用い,Sham 群と比較して平均値に有意な差があるかどうか検定した(n=6,P<0.5)。例えば,ラドンを吸入すると,メチオニンは有意に増加し,尿素とグルタチオンは有意に減少すること等がわかった。

肝臓ではどのような化合物が検出されるか予備試験を行い 33 種類の化合物が検出されること を確認した。

3.3.2.4 機械学習によるデータ解析結果

機械学習の一種である SOM を用いたデータ解析による出力マップでは、ラドン濃度と吸入日数に従って、代謝物がどのように変化するか明らかにした。

3.3.2.5 まとめ

マウス脳で検出された代謝物の確認とそのデータ解析を行った。ラドン吸入による脳中のメチオニンの増加などから、抗酸化物質に関わる変化があることがわかった。また、SOM を用いたクラスタリングで、ラドン濃度および日数に依存したクラスタの抽出ができた。今後は、昨年度の結果も含めた総合的な評価を行い、α線被ばくの影響を考察したい。

参考文献

- 1) L. Sun, T. Moritake, K. Ito, Y. Matsumoto, H. Yasui, H. Nakagawa, A. Hirayama, O. Inanami, K. Tsuboi. "Metabolic analysis of radioresistant medulloblastoma stemlike clones and potential therapeutic targets" PLoS ONE. 12: e0176162, 2017.
- 2) 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.
- 3) 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- κ B 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.
- 8) 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: 850-856, 2018.
- 11)株式会社ユーグレナ、「硫黄化合物含有物質の評価方法及び揮発性低分子硫黄化合物の定量 方法」、日本国特許第6426329号、W0/2018/201879、PCT/JP2018/018154、2018.
- 12) 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.

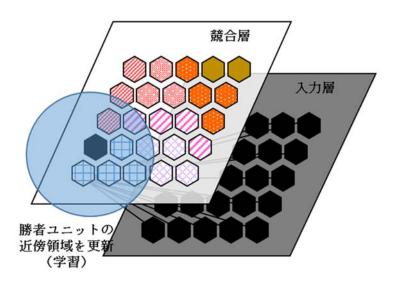


図 3-5 SOM の構成

3.4 研究推進

本研究を推進するにあたり複数回の研究打ち合わせや情報交換を実施した。その概要は下記の通り。

3.4.1 第一回打ち合わせ

日時:令和元年6月3日(月)13:30~15:00

場所:岡山大学鹿田キャンパス

出席者:片岡隆浩(岡山大),迫田晃弘(原子力機構),神崎訓枝(原子力機構),他 打ち合わせ内容:英知事業の成果報告と動物実験の予定

- ・平成30年度の英知事業の成果について報告した。
- ・令和元年度の動物実験の予定について、ラドン吸入条件や実験日時等について検討した。

3.4.2 第二回打ち合わせ

日時: 令和元年9月17日(火) 13:30~15:00

場所:岡山大学鹿田キャンパス

出席者:片岡隆浩(岡山大),迫田晃弘(原子力機構),神崎訓枝(原子力機構),他 打ち合わせ内容:動物実験の最終打ち合わせ、成果報告

- ・9月19日から開始する動物実験のスケジュールの最終確認と実験準備について話し合った。
- •16th International Congress of Radiation Research. Manchester, UK で得られた情報を共有した。

3.4.3 第三回打ち合わせ

日時:令和元年12月16日(月)13:30~15:00

場所:岡山大学鹿田キャンパス

出席者:片岡隆浩(岡山大),迫田晃弘(原子力機構),神崎訓枝(原子力機構),他 打ち合わせ内容:動物実験で得られたサンプルの分析結果の進捗状況について

・令和元年度に実施した動物実験のサンプルの分析結果の速報をした。

3.4.4 英知事業中間フォロー

日時:令和元年11月20日(水)11:00~12:00

場所:新橋パークサイドビル 6階会議室

出席者:片岡隆浩(岡山大),迫田晃弘(原子力機構),神﨑訓枝(原子力機構),他

内容:令和元年度英知事業の中間報告

・令和元年度英知事業の中間報告をした。

3.4.5 成果報告会

日時:令和2年1月28日(火)

場所: CIVI 研修センター

出席者:片岡隆浩(岡山大),他

内容:令和元年度英知事業の成果報告

令和元年度英知事業の成果報告をした。

3.4.6 学会発表一覧

本研究課題に関する学会発表を実施したので、その一覧を下記に示す。

- 1. 片岡隆浩,神崎訓枝,迫田晃弘,石田毅,首藤妃奈,矢野準喜,田中裕史,花元克巳,寺東宏明,光延文裕,山岡聖典.ラドン吸入によるマウス諸臓器中の過酸化水素産生に関する基礎的検討.第44回中国地区放射線影響研究会,2019.8.2,広島.
- 2. Takahiro Kataoka, Norie Kanzaki, Akihiro Sakoda, Tsuyoshi Ishida, Hiroshi Tanaka, Katsumi Hanamoto, Hiroaki Terato, Fumihiro Mitsunobu, Kiyonori Yamaoka. Basic study on suppression effects of active oxygen diseases by radon inhalation and its mechanism. 16th International Congress of Radiation Research. 2019. 8. 25-29 Manchester, UK.
- 3. 片岡隆浩,神崎訓枝,迫田晃弘,石田毅,首藤妃奈,矢野準喜,田中裕史,花元克巳,寺東宏明,光延文裕,山岡聖典. ラドン吸入による抗酸化機能の亢進がマウス諸臓器中の過酸化水素産生に及ぼす作用. 日本原子力学会中国・四国支部第13回研究発表会,2019.9.20,岡山.
- 4. 片岡隆浩,神崎訓枝,迫田晃弘,石田毅,首藤妃奈,矢野準喜,田中裕史,花元克巳,寺東宏明,光延文裕,山岡聖典.マウス諸臓器におけるラドン吸入による過酸化水素の産生に伴う酸化ストレスの評価.日本放射線影響学会第62回大会,2019.11.14-16,京都.
- 5. 神﨑訓枝, 迫田晃弘, 田中裕史, 片岡隆浩, 石田 毅, 山岡聖典. 機械学習を用いたメタボローム解析データからのラドン吸入によるマウス血液および脳中イオウ代謝産物の変化の特徴抽出 (Feature extraction of changes of sulfur metabolite in mouse blood and brains by radon inhalation from metabolic analysis using machine learning). 日本放射線影響学会第62回大会, 2019.11.14-16, 京都.
- 6. 片岡隆浩,神崎訓枝,迫田晃弘,首藤妃奈,矢野準喜,石田毅,田中裕史,花元克巳,寺東宏明,光延文裕,山岡聖典.マウス諸臓器における過酸化水素の産生量のラドン吸入時間依存性.日本原子力学会 2020 年春の年会. 2020.3.16-18,福島.

4. 結言

本研究では、 α 核種の吸入による生物学的影響を、細胞レベル、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 線がヒットする細胞を対象にしたマイクロドジメトリ、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 とそれを消去する抗酸化機能の測定、および、網羅的な生体内代謝物の変動について検討した。さらに、 239 PuO $_2$ 曝露による肺への影響を中心に文献調査をした。

論文投稿予定のため結言の一部を省略させていただいた。

This is a blank page.

国際単位系(SI)

表 1. SI 基本単位

基本量	SI 基本単位			
巫平里	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	A		
熱力学温度	ケルビン	K		
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

組立量	SI 組立単位		
和工里	名称	記号	
面	責 平方メートル	m ²	
	責 立方メートル	m^3	
速 さ , 速 月	度 メートル毎秒	m/s	
加 速 月	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	度 キログラム毎立方メートル	kg/m ³	
面積密度	度 キログラム毎平方メートル	kg/m ²	
比 体 和	責 立方メートル毎キログラム	m³/kg	
電流密度	度 アンペア毎平方メートル	A/m ²	
磁界の強き	アンペア毎メートル	A/m	
量濃度 ^(a) ,濃厚	度 モル毎立方メートル	mol/m ³	
質 量 濃 月	度 キログラム毎立方メートル	kg/m ³	
	度 カンデラ毎平方メートル	cd/m ²	
出 切 半	^{b)} (数字の) 1	1	
比透磁率(^{b)} (数字の) 1	1	

表3. 固有の名称と記号で表されるSI組立単位

5(衣される引起立中位			
SI 組立単位			
[単位による SI基本単位による			
表し方 表し方			
1 ^(b) m/m			
1 (b) m ² /m ²			
s^{-1}			
m kg s ⁻²			
N/m^2 $m^{-1} kg s^{-2}$			
N m m ² kg s ⁻²			
J/s m ² kg s ⁻³			
s A			
$W/A = m^2 kg s^{-3} A^{-1}$			
$m^{-2} kg^{-1} s^4 A^2$			
V/A m ² kg s ⁻³ A ⁻²			
A/V $m^{-2} kg^{-1} s^3 A^2$			
$Vs = m^2 kg s^{-2} A^{-1}$			
Vb/m ² kg s ⁻² A ⁻¹			
Wb/A $m^2 \text{ kg s}^{\cdot 2} \text{ A}^{\cdot 2}$			
K			
ed sr ^(c) cd			
m/m ² m ⁻² cd			
$\mathbf{s}^{\cdot 1}$			
J/kg m ² s ⁻²			
m s			
7 -9			
J/kg m ² s ⁻²			
s ⁻¹ mol			

- 酸素活性|カタール kat simple

 (a)SI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。
 (b)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、患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。
 (c)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)へルソは周朝現象についてのみ、ペクレルは放射性接種の統計的過程についてのみ使用される。(d)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。セルシウス度とケルビンの単位の大きさは同一である。したがって、温度差や温度開局を表す数値はどもらの単位で表しても同じである。(f)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動告2(CI-2002)を参照。

表 4 単位の中に因有の名称と記号を含むSI組立単位の例

表 4. 単位 0)中に固有の名称と記号を含		立の例
	S	I 組立単位	
組立量	名称	記号	SI 基本単位による 表し方
粘	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 力	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		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		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		m ⁻³ s A
	クーロン毎平方メートル		m ⁻² s A
電 束 密 度 , 電 気 変 位	クーロン毎平方メートル		m ⁻² s A
誘 電 率	ファラド毎メートル	F/m	$m^{-3} kg^{-1} s^4 A^2$
透磁率	ヘンリー毎メートル	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	グレイ毎秒	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		m ⁻³ s ⁻¹ mol

表 5. SI 接頭語									
乗数	名称	記号	乗数	名称	記号				
10^{24}	ヨ タ	Y	10 ⁻¹	デ シ	d				
10^{21}	ゼタ	Z	10 ⁻²	センチ	c				
10^{18}	エクサ	E	10 ⁻³	₹ <i>リ</i>	m				
10^{15}	ペタ	Р	10 ⁻⁶	マイクロ	μ				
10^{12}	テラ	Т	10 ⁻⁹	ナーノ	n				
10^{9}	ギガ	G	10 ⁻¹²	ピコ	p				
10^{6}	メガ	M	10^{-15}	フェムト	f				
10^{3}	丰 口	k	10 ⁻¹⁸	アト	a				
0			-01	18					

10-24 ヨクト

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					
目	d	1 d=24 h=86 400 s					
度	0	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, l	1 L=1 l=1 dm ³ =10 ³ cm ³ =10 ⁻³ m ³					
トン	t	1 t=10 ³ kg					

da

表7. SIに属さないが、SIと併用される単位で、SI単位で 表される数値が実験的に得られるもの

	衣される数値が美厥的に待られるもの							
名称					記号	SI 単位で表される数値		
	電	子力	ドル	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	質量单	並	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
		1 mmHg≈133.322Pa
オングストローム	Å	1 Å=0.1nm=100pm=10 ⁻¹⁰ m
海里	M	1 M=1852m
バーン	b	1 b=100fm ² =(10 ⁻¹² cm) ² =10 ⁻²⁸ m ²
ノ ッ ト	kn	1 kn=(1852/3600)m/s
ネ ー パ	Np	CI単位しの粉は的な則核は
ベル	В	SI単位との数値的な関係は、 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	P	1 P=1 dyn s cm ⁻² =0.1Pa s
ストークス	St	1 St =1cm ² s ⁻¹ =10 ⁻⁴ m ² s ⁻¹
スチルブ	sb	1 sb =1cd cm ⁻² =10 ⁴ 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
+	ユ		リ	ſ	Ci	1 Ci=3.7×10 ¹⁰ Bq
ν	ン	卜	ゲ	ン	R	$1 \text{ R} = 2.58 \times 10^{-4} \text{C/kg}$
ラ				k	rad	1 rad=1cGy=10 ⁻² Gy
ν				ム	rem	1 rem=1 cSv=10 ⁻² Sv
ガ		ン		7	γ	$1 \gamma = 1 \text{ nT} = 10^{-9} \text{T}$
フ	æ.		ル	131		1フェルミ=1 fm=10 ⁻¹⁵ m
メートル系カラット			ット		1 メートル系カラット= 0.2 g = 2×10 ⁻⁴ kg	
卜				ル	Torr	1 Torr = (101 325/760) Pa
標	準	大	気	圧	atm	1 atm = 101 325 Pa
力	П		IJ	ĺ	cal	1 cal=4.1858J(「15℃」カロリー),4.1868J (「IT」カロリー),4.184J(「熱化学」カロリー)
3	ク		口	ン	μ	1 μ =1μm=10 ⁻⁶ m