

学位請求論文の内容の要旨

領 域	生体検査科学領域	分 野	
氏 名	藤嶋 洋平		
(論文題目) 細胞遺伝学的線量評価法の検討及び哺乳類における放射線生物影響評価への応用			
主 査	三浦 富智		
副 査	中村 敏也		
副 査	細川 洋一郎		
副 査	吉田 光明		
<p>【はじめに】 緊急被ばく医療において、二動原体染色体 (dicentric chromosome: Dic) を指標とした細胞遺伝学的被ばく線量評価法は、国際的ゴールドスタンダードとされており、Dic の出現頻度から個体の被ばく線量を評価することが可能である。原子力災害や放射線関連事故では、末梢血リンパ球を用いて Dic を解析するが、事故が発生した地域によっては、推奨条件下での血液の保存や搬送が困難な場合がある。また、Dic 解析をはじめとする染色体異常解析法は実験動物や野生動物を対象とした放射線生物影響解析にも有用であることが知られている。本研究では、研究Ⅰとして、ヒト末梢血において抗凝固剤、血液保存温度、電離放射線被ばくの有無、及び保存時間が採血後の血球数及び分裂指数に及ぼす影響を検討した。研究Ⅱでは、野生動物において見られた染色体異常と個体の被ばく線量との関係を検討するために、アカネズミ及び浪江町内を自由に徘徊しているネコにおいて個体の被ばく状況の評価を行った。さらに、研究Ⅲでは、東日本大震災に伴う東京電力福島第一原子力発電所事故によって放出された放射性物質汚染地域に生息する野生生物を対象とし、細胞遺伝学的線量評価手法を応用して放射線の生物影響を解析した。</p> <p>研究Ⅰ．細胞遺伝学的線量評価における抗凝固剤、血液保存温度及び保存期間が血球数及び分裂指数に及ぼす影響</p> <p>【目的】 Dic を指標とした線量評価を行う場合、一般的に 1,000 細胞以上の解析可能な分裂中期像が必要となる。十分な分裂中期像が得られる方法を確立するため、採血時の抗凝固剤、採血後の保存・輸送温度が血球数及び分裂指数に及ぼす影響について検討した。</p> <p>【方法】 インフォームドコンセントの得られた健常ボランティアよりリチウムヘパリン採血管及び EDTA-2K 採血管を用いて採血し 3 Gy の X 線 (150 kVp, 20 mA, 0.5 mm Al/0.3 mm Cu filters, 1.0 Gy/min) 及び sham 照射を行った。血液は $5.2 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ または</p>			

(注) 論文題目が外国語の場合は、和訳を付すこと。

【細則様式第 1－2 号続き】

室温 ($20.3 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$) で 6、24、48、72、及び 168 時間保存し、多項目自動血球分析装置を用いて血球数を測定するとともに、血液塗抹標本を作成し血球凝集の有無を確認した。また、国際的標準法に準拠して染色体標本を作成し分裂指数を算出した。

【結果と考察】ヘパリン血を室温保管した場合において採血後 6 時間から 72 時間までは、分裂頻度が 20–30% に保たれていたが、冷蔵保存をした場合は、室温で保管した場合に比べて 5–10% 低下していることが判明した。興味深いことに、細胞遺伝学的解析には推奨されない EDTA 血において、冷蔵保管した血液の場合は一度血液を洗浄し、EDTA を除去することによって、72 時間まではヘパリン血と同程度の分裂頻度が得られることを新たに発見した。このことから、ヘパリン採血では室温保存が推奨されるが、室温保存が難しい場合は、EDTA 血を冷蔵保管し、血液培養の前に、EDTA を除去することで細胞遺伝学的線量評価に十分な分裂中期像を得ることができると考えられる。

研究Ⅱ．放射線汚染地域に生息する野生動物の個体被ばく線量に関する研究

【目的】放射線汚染地域における野生生物の個体被ばく線量を調査した報告はいくつか存在するものの、そのほとんどが空間線量率や土壌の放射性物質濃度などの環境指標を元に計算またはシミュレートされたものであり、実際の被ばく線量を測定した報告はない。本研究では、放射線汚染地域及び対照地域に生息するアカネズミに蛍光ガラス線量計を留置し、個体が実際に受ける被ばく線量を実測することを目的とした。また、住民の生活環境の放射性物質の汚染レベルを評価するため、浪江町内を自由に徘徊しているネコ (*Felis silvestris catus*) の生殖器における放射性物質濃度を測定した。

【方法】放射線汚染地域及び対照地域に生息するアカネズミに蛍光ガラス線量計を留置し放逐後、アカネズミを再捕獲して線量計を回収した。また、浪江町のボランティアグループによって保護されたネコより去勢・避妊の目的で摘出した生殖器の提供を受け、サンプル中の ^{134}Cs 及び ^{137}Cs の放射能をゲルマニウム半導体検出器により測定した。

【結果と考察】空間線量率が高線量 ($19.6 (10.0\text{--}23.5) \mu\text{Gy/h}$) ・中線量 ($8.7 (8.2\text{--}9.7) \mu\text{Gy/h}$) ・低線量 ($0.5 (0.4\text{--}0.9) \mu\text{Gy/h}$) である地域において、アカネズミの個体における被ばく線量を小型ガラス線量計によって測定した結果、それぞれ $249.43 \pm 74.43 \mu\text{Gy/day}$ 、 $123.76 \pm 14.72 \mu\text{Gy/day}$ 、 $14.03 \pm 14.41 \mu\text{Gy/day}$ であった。対照地域においても同様に被ばく線量を測定したところ、 $1.58 \pm 1.09 \mu\text{Gy/day}$ であった。このことは、高線量率・中線量率地域では、依然として国際放射線防護委員会の提唱する誘導考慮参考レベルの下限値 ($100 \mu\text{Gy/day}$) を上回っており、影響を考慮するレベルにあることを示唆している。さらに、高線量率地域より捕獲した個体を安楽死後、対照地域である弘前市にて再度新しい蛍光ガラス線量計を留置し、内部被ばく由来の線量を解析した。その結果、3.3–5.9% が内部被ばく由来であることが明らかとなった。

保護されたネコにおける生殖器の放射性セシウム濃度 ($^{134+137}\text{Cs}$: Min. 検出限界以下、Max. 5754.8 Bq/kg) は、対照地域 (東京都多摩地区) と比較して高濃度であった。しか

【細則様式第 1－2 号続き】

し、空間線量率や土壌中の放射性セシウム濃度との相関関係は認められなかった。2013 年の 9 月から継続的にモニタリングを続けているが、生殖器官に蓄積された放射性セシウムは減少傾向にある。

研究Ⅲ．放射線汚染地域に生息する野生動物への細胞遺伝学的線量評価手法の応用

【目的】放射性物質汚染地域に生息する野生生物への放射線影響を調査することは、生態系に対する影響評価や環境保全にとって極めて重要である。本研究では放射線汚染地域に生息するアカネズミ (*Apodemus speciosus*)、アライグマ (*Procyon lotor*) 及びニホンザル (*Macaca fuscata*) に着目し、Dic法または染色体転座の解析を試みた。

【方法】放射線汚染地域及び対照地域に生息するアカネズミより脾臓リンパ球を、アライグマ及びニホンザルより末梢血リンパ球を細胞培養した後、染色体標本を作製した。アカネズミとアライグマにおいてはギムザ染色により二動原体染色体 (Dic) 解析を、ニホンザルにおいてはヒト染色体ペインティングプローブを用いたFISH法による染色体転座解析を行った。

【結果と考察】アカネズミより得られた染色体からはDicやringなどの放射線に特異性の高い染色体異常は検出されなかった。染色体型ギャップや染色分体型切断などの構造異常が福島及び青森の両群で検出されたが、これらの異常も経年的に減少傾向にあることが明らかになった (2011年秋: 11.5%、2012年秋: 7.1%、2013年秋: 4.0%)。

アライグマの染色体においては、放射線汚染地域において捕獲された個体においてのみ、放射線に特異性の高い染色体異常であるDicを検出した。また、その他の染色体構造異常 (ギャップ、切断) に関しても各個体にそれぞれ認められた。しかし、空間線量率や土壌の放射性物質濃度などの環境指標との相関は認められず、アライグマの行動範囲や食餌に関しても考慮した評価が必要であることが示唆された。

ニホンザルの染色体転座解析では、放射線汚染地域に生息する個体における転座頻度と対照地域に生息する個体における染色体転座頻度を比較した結果、対照地域 (0.000–0.254/100 細胞) に比べ、放射線汚染地域 (0.321–2.529/100 細胞) の個体群が有意に高い値を示した。遡及的線量評価が可能な転座解析により、放射線汚染地域では、染色体異常頻度が有意に高く、ヒトに類縁なサル類において、低線量・低線量率慢性被ばくによる放射線生物影響が認められたことは重要な知見である。

【総括】本研究において、第一に、細胞遺伝学的線量評価に用いるヒト血液を搬送・保存する際の、最適な条件及び代替条件を提示した。第二に、蛍光ガラス線量計を用いた個体の被ばく線量の測定法を開発し、放射線汚染地域に生息するアカネズミの個体被ばく線量の実測値を提示した。また、ネコにおける生殖器の放射性セシウム濃度は、継続的なモニタリングの結果、減少傾向にあることを明らかにした。第三に、放射線汚染地域に生息する野生動物において、Dic 及び染色体転座の解析が環境モニタリングのための有用な評価手法となることを提示した。

【細則様式第 1－2 号続き】

学位論文のもととなる研究成果としての筆頭著者原著

論文題目	Influence of anticoagulants and storage temperatures on blood counts and mitotic index of blood samples collected for cytogenetic biodosimetry
著者名	Yohei Fujishima, Syuki Kanahama, Shigeki Hagino, Shiori Natsubori, Hitoshi Saito, Ayaka Azumaya, Kentaro Ariyoshi, Akifumi Nakata, Kosuke Kasai, Kyogo Yamada, Yasushi Mariya, Mitsuaki A. Yoshida, Tomisato Miura
掲載学術誌名	International Journal of Radiation Biology
巻，号，項	印刷中（doi: 10.1080/09553002.2019.1539882）
掲載年月日	2018 年 10 月 29 日（電子版掲載日）