

労災疾病臨床研究事業費補助金

緊急被ばく医療が必要とされるような  
事故発生時におけるトリアージのための  
線量評価手法の確立に関する研究

平成 27 年度 総括・分担研究年度終了報告書

研究代表者 櫻田尚樹

平成 28 (2016) 年 3 月



## 目 次

### I. 総括研究報告

緊急被ばく医療が必要とされるような事故発生時におけるトリアージのための  
線量評価手法の確立に関する研究

櫛田尚樹 ..... 1

### II. 分担研究報告

1. 電子スピン共鳴法を用いた線量推計法の開発 ..... 2 1

山口一郎・三宅実・志村勉

2. リン酸化ヒストン H2AX ( $\gamma$ -H2AX)を用いた生体内 DNA 損傷レベルの測定による線  
量評価 ..... 5 3

中村麻子・盛武敬

3. 被ばくによる生体内 DNA 損傷レベルの測定と X バンド EPR による被ばく後抗酸  
化能の動態解析 ..... 5 9

盛武敬

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ..... 6 9



## I. 総括研究報告



労災疾病臨床研究事業費補助金  
総括研究年度終了報告書

緊急被ばく医療が必要とされるような事故発生時における  
トリアージのための線量評価手法の確立に関する研究

研究代表者 樺田尚樹 国立保健医療科学院生活環境研究部 部長

研究要旨

本研究では、EPR(Electron paramagnetic resonance)技術を用いた線量評価として口腔内の歯を直接、L-band EPR 法により放射線誘発ラジカルを測定する放射線被ばく線量測定法やこれまでに確立されている生体内 DNA 損傷モニタリング手法との連携による EPR 技術を用いた線量評価感度の向上を目指すとともに、抗酸化能の動態解析を行うことで簡便なバイオ・ドシメトリー法の確立を試み、専門的治療を必要とする 1 Gy 以上の被ばくのトリアージを可能にすることを目指して実施した。

(1) Lバンド EPR 法による線量評価

- ・口腔内で安定して線量測定ができるようにループ径が小さい共振器(6.0mm)を開発し利用可能とした。
- ・エネルギーによる応答の違いを検討した結果、Cs-137  $\gamma$  線源に比しエネルギーの低い医療現場で使用される X 線では同じ線量でも信号強度が 4 倍程度であった。290MeV 炭素線に対する応答も検討した。
- ・当初 2 年目に予定していた、EPR 装置を移動した際の測定に影響する環境因子の検討を一部開始し、周辺での家電製品の使用や電磁波強度が S/N と関係することを確認した。一方、科学院内の電波暗室では S/N が 2 倍程度向上することを確認し、測定時の周辺環境整備の課題が抽出された。

(2) 生体内 DNA 損傷レベルの測定

- ・リン酸化ヒストン H2AX ( $\gamma$ -H2AX) 検出を簡便に行うことのできる新規デバイスの予備的な開発研究として、近年その生物分野への応用が目覚ましい Polydimethylsiloxane (PDMS)チップに着目した。今年度は PDMS チップ上で簡便にリンパ球分離を行うことのできる微細構造の試作を行った。
- ・放射線被ばく後の DNA 損傷レベルと次項の抗酸化能の相関性を明確にするための予備的研究を本年 1 月より開始し、被ばく線量を把握可能な IVR 実施患者から採血した血液サンプルを用いて  $\gamma$ -H2AX による DNA 損傷レベルの確認を行った結果、線量相当の DNA 損傷が検出された。

(3) Xバンド EPR による被ばく後抗酸化能の動態解析

- ・マウスの全身に X 線 0、0.5、2Gy を照射し、経時的に採血し、X バンド EPR により血中抗酸化能を測定した。
- ・照射群では線量依存的に抗酸化能の低下が観察され、特に照射 2、4、6 日後の抗酸化能レベルと照射線量には高い相関関係( $r=0.97$  以上)が認められた。
- ・この結果から、少なくとも、被ばく線量 0.5-2Gy、被ばく後 2~6 日の範囲内では、本手法により被ばく線量を推定することができると考えられた。

今後、これまでの検討で見いだした課題を解決していくことで、本研究課題の最終目標である災害派遣型 EPR 線量評価ユニットで最終的に急性被ばく 1Gy 以上を分別可能な、効果的な線量評価法・トリアージシステムとして社会実装するための成果が得られたと考えられる。

## 研究分担者

盛武敬	産業医科大学産業生態科学研究所放射線健康医学 准教授
中村麻子	茨城大学理学部 准教授
志村勉	国立保健医療科学院 生活環境研究部 上席主任研究官
山口一郎	国立保健医療科学院 生活環境研究部 上席主任研究官
三宅実	香川大学 医学部 歯科口腔外科学 教授

## 研究協力者

平田拓	北海道大学 大学院情報科学研究科 教授
小林杏	神奈川歯科大学 非常勤講師
井上一彦	鶴見大学 非常勤講師
豊田新	岡山理科大学 理学部 教授
五十嵐友紀	産業医科大学産業生態科学研究所職業性中毒学 講師
孫略	産業医科大学産業生態科学研究所放射線健康医学 産業医学基礎研究医員
千田浩一	東北大学災害科学国際研究所
稲葉洋平	東北大学災害科学国際研究所
志賀匡宣	同仁化学研究所
石田和彦	同仁グローバル
渡邊純平	同仁グローバル

### A. 目的

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おいては、環境中への大量な放射性物質の放出を伴う大規模な災害となった。幸いにして原発サイト内での緊急作業従事者においても急性放射線障害を発生する線量の被ばくは無かったが、チェ

ルノブイリ事故では急性放射線症候群による死亡者も多数発生した。また国内においても、1999年のJCO臨界事故により、急性放射線症候群を伴いその後の精力的な治療にも係らず2名死亡事例が発生した。放射線被ばくは、このような事故事例だけでなく、放射線源の盗難・紛失、ダーティボム等テロ対策も想定しておく必要がある。医療機関にはあまり使われないこともある100TBq程度のCs-137線源が百個程度あり、その処分等が容易ではないことから、そのまま保管されていることがある。このような線源が悪用されることを想定し、平成25年度の国民保護訓練では、弘前市運動公園において発生したダーティボムによる爆破事案への対応を想定してシナリオで実施された。2013年4月15日のボストン・マラソン会場での爆弾事件でダーティボムが使われるような想定である。

これら予期せぬ放射線被ばくが様々な場面において発生する可能性があり、トリージ対応可能な線量評価の重要性が指摘されている。

旧原子力安全委員会の提言「緊急被ばく医療のあり方について」（平成13年報告、平成20年改訂）においては、緊急被ばく医療体制の整備として、原子力施設においては、作業員の応急処置とともに、簡易な測定等による汚染の把握（サーベイランス）、スクリーニングを行った後、除染や汚染の拡大防止の措置を行い、緊急被ばく医療機関に患者を搬送することとされている。大量の被災者が生じる事象では、緊急被ばく医療機関に患者を搬送するためには線量トリージが必要となる。線量計などでの評価がなされていない場合には、バイオ・ド

シメトリーが必要となる。バイオ・ドシメトリーとは、生体試料や生理学的試料を材料として、被ばく線量を推定する手法である。バイオ・ドシメトリーは医療が必要な被災者をトリアージで選び出すことで救命し、大量の放射線に曝露していないにもかかわらず曝露していると思っている被災者に大量の放射線を曝露していないことを示し、事態を正確に把握することで対応の最適化を図り、必要な治療に必要なタイミングで始めることに役立つものと考えられる。

しかし、現在のところ、事故発生時における対象者の優先度を決めた選別（トリアージ）のための線量評価に関する手法が確立しておらず、多くの対象者に時間及び過度の侵襲も与えずに、0.5-1.0Gy以上の放射線被ばくの有無やその程度を一定の不確かさの範囲内で検査する方法は未だ確立していない。対策の頑強性を保ち、線量推計結果への信頼性を高めるためには複数の手法による方法を確立する必要がある。

トリアージの手法としては、これまで各種のバイオアッセイによる線量推計の開発が進められ、事例への適用が試みられており、そのゴールドスタンダードは染色体異常分析である。この方法はリンパ球培養を伴い、結果を得るまでに時間がかかること、その分析技術を有するものが限られるなど課題がある。これに対して、自動検出顕微鏡画像解析システムや高精度 FISHなどを用い、解析時間を短縮し、検出感度を上げるための改善が試みられているが、結果を得るまでに時間がかかること、低線量放射線の影響は検出されにくいこと、安定型の染色体異常を検出する方法では、累積した放射線被ばくの影響しか検出できな

いことなどの課題がある。この課題は世界各国で共通し、どの国も国内の研究機関だけでは有事の際の対応が困難であることから、国を超えた研究機関ネットワークが構築されつつある。この活動を促進した事象の一つが、ブラジルのゴイアニアでの医療用線源による環境汚染事象（1987年）であり、国際保健機関による BioDoseNet やヨーロッパでの European RENE, MULTIBIDOSE projects やその他の多くの取り組みが開始されることとなった。

米国では、核災害に対応すべく、2005年に科学的、政策的な基盤となる考え方の整理が試みられ、2009年に Radiation Laboratory Network (Rad-LN)が提唱され、2010年に Biodosimetry Architecture to incorporate the U.S. strategy for medical countermeasures development が提唱された。

2011年の東電福島原発の事故は、バイオ・ドシメトリーに対する国際的な協力体制も含む準備の重要性を再認識させることとなり、新しい対応として、Integrated Clinical Diagnostics System (ICDS) が提案された。提案された、ICDSは、データ管理、品質管理、個人情報保護、地図情報としての可視化、モデリングの要素により初期対応への貢献が目指されている。このようネットワークでは、標準作業手順書 (SOP (Standard Operating Procedure)) の作成など品質管理に関わる取り組みも行われている。

一方、生体試料を用いた物理的な方法として、EPR (Electron paramagnetic resonance) 技術を用いた線量評価は、従来少量の試料で感度高く評価可能な X-band 法により抜去歯を用い広島・長崎の原爆被爆者の線量評価にも応用されてきた。しかし、X-band 法

は、電磁波の生体内での透過の問題により、生体での測定は原理的に不可能であった。これに対して、口腔内の歯より直接、L-band EPR 法により放射線誘発ラジカルを測定する放射線被ばく線量測定法を米国ダートマス大学 EPR センターと共同開発研究を行ってきた現在の検出感度は、Ex-vivo での X 線 1 Gy 照射標本で、感度 90%、特異性 80%であり、これが In vivo でも達成できるとトリアージとしては現状でも利用可能な性能であると考えられる。

バイオアッセイによる方法として、リン酸化型ヒストン H2AX ( $\gamma$ -H2AX) を用いた DNA 損傷モニタリング法は、生体内 DNA 損傷を迅速にモニタリングする新しい方法として期待されている。しかしその一方で、 $\gamma$ -H2AX アッセイを含めほとんどの影響評価アッセイは生体サンプルの調製、 $\gamma$ -H2AX に対する免疫染色工程、さらには蛍光顕微鏡による検出など、実験行程の複雑さという背景から実験室ベースで行われることがほとんどであり、事故現場のような『現場』における解析作業は困難な現状である。

そこで、迅速な DNA 損傷レベルのモニタリングを可能とするアッセイデバイスの開発を含めた  $\gamma$ -H2AX による線量評価システムの構築により、トリアージ対応可能な迅速な線量評価法の確立を目指す。また、被ばく量の明確な計画的被ばく者の生体内 DNA 損傷レベルを  $\gamma$ -H2AX アッセイを用いて測定し、 $\gamma$ -H2AX アッセイによる被ばく線量推計と被ばくのトリアージが可能であるかを検討するための予備的な解析を行う。

さらに、近年、培養細胞等を用いた実験により、放射線照射数時間以降にミトコン

ドリアからの活性酸素産生が亢進することが明らかとなっている。これにより細胞内の酸化還元バランス(レドックスバランス)が酸化方向に傾くことにより放射線影響が增強すると考えられる。本年度は放射線照射後の生体内レドックスバランスを測定し、被ばく線量推計とトリアージ利用可能か解析することも目的とした。

この課題に対し、本研究班はヒトを対象として計測できる L バンド電子常磁性共鳴測定法 (EPR) によるシグナルから線量を推計する装置を国内で唯一開発・保有している背景を有している。加えて電子スピン共鳴法を使った関連技術 (X band の EPR を使ったごく少量の血液の採取で検査できる抗酸化能測定キット) を使った研究も進め、さらにはリン酸化型ヒストン H2AX ( $\gamma$ -H2AX) を用いた DNA 損傷モニタリング法による生体内 DNA 損傷を迅速かつ高感度にモニタリングする手法を検討してきた背景を有する。

以上より被ばく線量の評価に関し、国内における実施可能性、汎用性について実証的な研究を進め、その方法を確立することを目的とした。

## B. 研究方法

以下の 3 つの研究を実施した。

- (1) 電子スピン共鳴法を用いた線量推計法の開発
- (2) リン酸化ヒストン H2AX ( $\gamma$ -H2AX)を用いた生体内 DNA 損傷レベルの測定による線量評価
- (3) 被ばくによる生体内 DNA 損傷レベルの測定と X バンド EPR による被ばく後抗酸化能の動態解析

## 1) 電子スピン共鳴法を用いた線量推計法の開発

### a) エナメル質の厚みが信号に与える影響の検証

エナメル質の厚みが信号に与える影響を検証するために健常な 10 本の日本人の上顎中切歯を用いて X 線を 1, 5, 10, と 20 Gy と段階的に照射し、照射前と照射後でそれぞれ歯肉に隣接する部分、中央部、切縁部部位で EPR 信号を計測した。

エナメル質の厚みは、マイクロフォーカス CT (inspeXio SMX-90CT、島津製作所) を用いて得られた画像を画像解析ソフト (Osirix™ imaging software (Ver. 5.8.5 on MacOS.10.9)) を用い Chen の方法により、それぞれの部位において計測した。

歯の構造の違いによる EPR 信号の大きさの違いを電磁波のシミュレーションでも検討した。

### b) オンサイトでの in vivo EPR 測定の課題の検討

装置を福島県に運び測定を実施した。被災地での研究は、倫理的な面に関して特段の配慮が求められることから、事前の説明を徹底し、慎重に研究を進めた。

この装置の検出限界は、in vivo ではよい条件でも 1Gy 程度と考えられ、原発事故の影響を確認することはできず、福島県内の住民であっても本研究に参加することで得られる線量評価や健康面に関する直接的な利益が期待できない。その一方で電磁波曝露などの不利益を被る。このことを十分に説明した上で、災害を経験なさった立場から、測定に対する印象などを率直に語って頂くようにした。測定は、上顎切歯を対象とし、掃引回数を 20 回とし、その測定を 3 セット

繰り返すようにした。

### c) 紫外線の影響の検証

本測定法は、上顎切歯を対象とすることから、紫外線の影響も受けることが研究計画の審査でも指摘を受けた。本測定法の紫外線による影響を調べるための予備的な実験として、歯に UV-C を曝露させた。試料は 3 本で、それぞれの曝露時間は、60 分間、120 分間、240 分間とした。曝露後に L band EPR dosimetry を行った。

### d) 高 LET 放射線の応答

高 LET 放射線として 290MeV のカーボンイオンを歯に照射した。照射は、放射線医学総合研究所の HIMAC で行った。照射は上顎切歯を対象とし、歯がブラッグピークに位置するようにし、10Gy、20Gy、30Gy をそれぞれ 6 本の歯に照射した。

### e) X バンドでの測定

歯科用タービンを用いて削り取られたエナメル質に X 線を段階的に照射し、X band EPR で計測した。

### f) 動物の歯の測定

被災動物の歯を非破壊的に L band EPR で計測した結果を解析した。なお、この測定結果は、『東日本大震災福島第一原子力発電所事故の被災動物の歯を用いた電子スピン法による被ばく線量評価法の確立』として公表されている<sup>1</sup>。

## 2) リン酸化ヒストン H2AX ( $\gamma$ -H2AX) を用いた生体内 DNA 損傷レベルの測定による線量評価

### a) $\gamma$ -H2AX アッセイデバイスとしての

1

[https://www.idac.tohoku.ac.jp/ja/joint/product/pdf\\_h25/35.pdf](https://www.idac.tohoku.ac.jp/ja/joint/product/pdf_h25/35.pdf)

### PDMS チップおよび小型遠心機の検討

迅速な $\gamma$ -H2AX アッセイデバイスとして、従来の密度勾配遠心法ではなくチップ上に拡散させることでリンパ球分離を行い、さらには同じチップ上で DNA 損傷レベルの解析も行うことのできるデバイスを想定し、Polydimethylsiloxane (PDMS) チップに着目し、比較的シンプルな V 字微細構造加工を施した PDMS チップにリンパ芽球細胞が固定可能か検討した。

b) 計画的被ばく者を対象とした被ばく後生体内 DNA 損傷レベル解析のための予備的な条件検討

本事業の研究分担者である盛武らのグループ（産業医科大学）によって採取された IVR(Interventional radiology)実施前後の被験者リンパ球における DNA 損傷レベルを $\gamma$ -H2AX アッセイによって測定するための予備的実験として、まず、産業医科大学におけるリンパ球の固定・分離作業および茨城大学までのサンプル送付条件が適当であるかを具体的な試行により検討した。

c) 放射線診療による放射線曝露後の生体内 DNA 損傷レベル解析

上記研究 b)においてサンプル調製条件および送付条件に問題がないことを確認したのち、IVR 実施前後の被験者サンプルを茨城大学に送付し、 $\gamma$ -H2AX による DNA 損傷レベルの解析を行った。

### 3) 被ばくによる生体内 DNA 損傷レベルの測定と X バンド EPR による被ばく後抗酸化能の動態解析

a) 全身被ばくマウスを利用した被ばく後生体内レドックス解析

放射線照射したマウスの血中の酸化還元バランスを解析した。

b) 放射線診療による放射線曝露後の生体内反応の解析

IVR は X 線透視参照しながら経皮的にカテーテルを疾患部位まで挿入し、診断や治療を行う手技のことである。特に脳血疾患や心血管疾患に対して行われることが多く、被ばく線量も高くなりやすい。本研究ではヒトにおける放射線後のレドックスバランス変化を明らかにするため、心血管疾患患者 10 例に対して、IVR 実施前後の酸化還元バランスおよびその他因子について解析した。

対象患者情報(表 1)、患者被ばく関連パラメータ (表 2)、採取した試料および評価項目 (表 3) を以下に示す。

試験期間	2016年1月~2016年2月
患者数	10例
平均年齢	73.6歳
性別	男4人、女6人

表 1. 対象患者情報

空気カーマ	DAP
撮影回数	撮影フレーム数
透視時間	3次元撮影数

表 2. 患者被ばく関連パラメータ

表 3. 採取した試料および評価項目

試料	評価項目
血液	EPR 酸化還元バランス リンパ球 DNA 損傷 血中抗酸化物質など
尿	8-OHdG
唾液	8-OHdG

(倫理面への配慮)

(1) 電子スピン共鳴法を用いた線量推計法の開発

本研究・調査の実施にあたっては、厚生労働省・文部科学省の「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」にもとづき、国立保健医療科学院における倫理委員会に、また各分担研究者所属機関の倫理委員会に申請・承認を経て実施している（国立保健医療科学院(NIPH-IBRA#12092)および香川大学医学部(Heisei#24-4)にて承認済み）。さらに民間保険にも加入し測定を実施した。

実施にあたっては、倫理指針に則り、調査開始に当たり、本研究の目的・意義・方法・侵襲度・予測される危険性などについて説明し十分な理解を得るようにした。参加は、本人に不利益を被らせることがないように配慮した。また、いつでも自由意志で参加の同意の撤回ができ、途中で参加を中止しても、本人に何ら不利な取り扱いを受けないことを保障した。この様な内容について十分に説明を行い、調査を実施し、情報の漏洩がないように努めた。データは被験者が特定できないように、個人情報識別管理者の管理の下で、被験者番号を付けて連絡可能匿名化し分析した。

(2) リン酸化ヒストン H2AX ( $\gamma$ -H2AX)を用いた生体内 DNA 損傷レベルの測定による線量評価および(3) 被ばくによる生体内 DNA 損傷レベルの測定と X バンド EPR による被ばく後抗酸化能の動態解析

動物実験は産業医科大学動物実験及飼育倫理審査委員会より承認を受けた。動物実験は産業医科大学動物実験管理規定に則して行われた。

ヒト対象試験は社会保険直方病院倫理審査委員会より承認を受けた。

利益相反情報は必要に応じて各研究機関の COI 委員会の審査を受けた。

C. 研究結果

1) 電子スピン共鳴法を用いた線量推計法の開発

a) エナメル質の厚みが信号に与える影響

エナメル質での 0.3mm の厚みの違いが信号に 1.3 倍程度の影響を与えることを確認した。また、Cs-137 線源に比べ医療での X 線では 4 倍程度応答が大きいことを確認した。

b) オンサイトでの *in vivo* EPR 測定の課題

装置を院外に運び出し計測を行った。測定に協力頂くことでの利益は全くなく、電磁波曝露などの不利益を被ることを理解した上で研究の協力が得られた。

セッティング時に装置が不調となりノイズが増大する現象が確認された。室温が 30 度近かったために冷房をしたところ、ノイズが低減した。このトラブル以外は順調に計測ができた。

c) 紫外線の影響の検証

UV-C の曝露で明瞭な曝露量-信号関係を確認した。

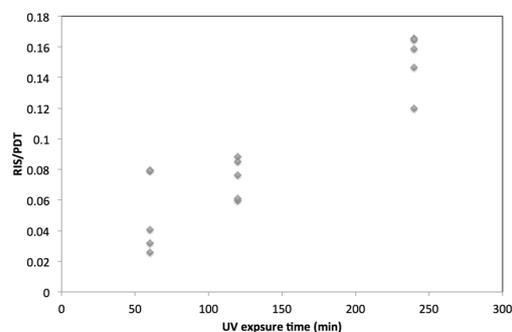


図 1. UV-C 照射と EPR 信号との関係

#### d) 高 LET 放射線の応答

290MeV の炭素線を照射し、線量に応じた応答が確認できた。炭素線では Cs-137 線源に比べ約 0.4 の応答であった。

シミュレーションの結果では、歯へのエネルギー付与のうち 86%が炭素によるものであった。

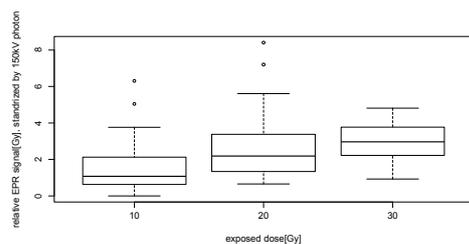


図 2. 炭素イオン照射に対する応答

#### e) X バンドでの測定

歯科用タービンでエナメル質を削り出すだけの方法でも、X 線の照射で 20mGy の増加が検出可能であった。

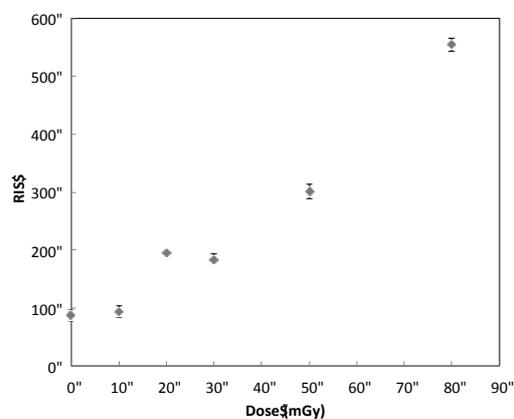


図 3. X band EPR dosimetry の測定結果

#### f) 動物の歯の測定

EPR 信号が見られた試料もあったが、動物の試料では、明確な曝露の履歴がないものでも信号が検出される例があった。X 線を追加照射した結果では、線量が低い領域で信号が相対的に大きくなっていた。

#### 2) リン酸化ヒストン H2AX ( $\gamma$ -H2AX)を用いた生体内 DNA 損傷レベルの測定による線量評価

##### a) $\gamma$ -H2AX アッセイデバイスとしての PDMS チップおよび小型遠心機の検討

遠心力を用いて PDMS チップ上にリンパ芽球細胞を拡散・固定するために、小型卓上遠心機に独自の治具を作成し、その能力を確認し、課題を見いだした。

検討した V 字型微細構造にリンパ芽球がトラップ可能であることが確認されたが、さらに、PDMS チップの十分な表面改質（親水処理）が必要であることを確認した。

##### b) 放射線診療による放射線曝露後の生体内 DNA 損傷レベル解析のための予備的な条件検討

産業医科大学から送付されたリンパ球細胞を用いて  $\gamma$ -H2AX に対する免疫染色を行い、放射線照射サンプルにおいて明確な  $\gamma$ -H2AX フォーカスを検出し、 $\gamma$ -H2AX フォーカスとして検出される DNA 二重鎖切断量は、放射線量に相関していることを確認した。全血液サンプルを直接固定したサンプルでも、これまでの報告と同様に、リンパ球細胞にのみ放射線誘発の DNA 損傷が  $\gamma$ -H2AX フォーカスとして明確に検出された。

##### c) 放射線診療による放射線曝露後の生体内 DNA 損傷レベル解析

産業医科大学から送付された IVR 実施患者由来リンパ球細胞を用いて  $\gamma$ -H2AX に対する免疫染色を行った。試験実施期間が 2016 年 1 月~2016 年 2 月であったため、詳細な解析は来年度以降となる見込みである。

### 3) 被ばくによる生体内 DNA 損傷レベルの測定と X バンド EPR による被ばく後抗酸化能の動態解析

#### a) 全身被ばくマウスを利用した被ばく後生体内レドックス解析

マウス全身にトリージ基準となる X 線 0.5-2Gy を照射し、経時的に採血を行い血中の酸化還元バランスを電子スピン共鳴法により解析した。その結果被ばく後に一過性に酸化還元バランスが特徴的な変化を示すことが確認された。この結果は以前に培養細胞を用いて得られた結果と一致していた。

#### b) 放射線診療による放射線曝露後の生体内反応の解析

試験実施期間が 2016 年 1 月~2016 年 2 月であったため、詳細な解析は来年度以降となる見込みである。ここでは暫定的な結果を報告する。

心血管 IVR の平均被ばく線量は空気カーマが  $474 \pm 293$  [mGy]、DAP が  $51 \pm 30$  [mGy  $\times$  cm<sup>2</sup>] となった (±標準偏差)。また、空気カーマと DAP 値の相関係数  $r=0.99$ 、空気カーマと透視時間の相関係数  $r=0.30$ 、空気カーマと撮影回数の相関係数  $r=0.83$ 、空気カーマと撮影フレーム数の相関係数  $r=0.79$  となり、既存の報告とほぼ一致した。また、IVR 直後に血色素量やヘマトクリットが一過性に低下した。現在抗酸化物質や 8-OHdG について解析を進めている最中である。

#### D. 考察

本研究は放射線曝露に関して最悪の事態への備えを考えるものである。最悪の事態として、どの程度の事象を考えればよいだろうか。ダートマス大学のアン・フラッド教授が本院のセミナーで講演された内容を

踏まえて検討してみる。広島に投下された原爆は、16kT 程度の威力とされるが、それを超える核兵器が開発されている。10kT の核兵器を想定した場合には、2 百万人の人口では、1 万 3 千人が即死し、19 万人で集中的な治療が必要と推測されている<sup>2</sup>。このような極端な事例を想定しなくても、放射線緊急事象では、線量の保証を求める人々への対応が求められることになる。

線量計ができない場合のバイオ・ドシメトリー法としては、(1) 体の組織の特性から照射後も残存する放射線照射により生成されるフリーラジカルの EPR による測定 (生体での DNA 修復と関係しない)、(2) 曝露からの嘔吐までの時間など臨床症状の観察、(3) 白血球数の減少とその回復パターンや dicentric chromosome (DCA) や放射線誘発小核など遺伝子の損傷、 $\gamma$ -H2AX のような修復蛋白質のような生物学的な応答の観察が考えられる。

事象発生時の対応のタイミングとしてはどのようなことが要求されるだろうか？事象はいつ発生するか未知であり、国による本格的な対応には 1 日から 3 日程度要するかもしれない。装置の準備や持出も円滑になされるかどうか課題となるかもしれない。異なる組織のスタッフがチームを組んで仕事をすることで効率性を保つことにも課題があるかもしれない。混乱した状況では情報の流れが整理されないかもしれない。その一方で事故の影響を受けた人々は不安に駆られるだろう。

このような場合、比較的多数の方々の測

<sup>2</sup> Waselenko et al. Medical Management of the Acute Radiation Syndrome: Recommendations of the Strategic National Stockpile Radiation Working Group. Ann Intern Med 2004; 140: 1037-51

定が必要になるだろう。東電福島第一原発事故では、吸入による内部被ばく線量の推定のための体表面汚染のスクリーニングの測定への対応が迫られることになった。

これよりもスケールが小さい1万人の計測でどの程度のスタッフが必要だろうか。初日はスタッフの教育、資材の準備、1万人分の血液試料の採取に費やされると仮定しよう。平均して各試料あたり情報を得て

ラベルを貼るのに5分必要で12時間休みなしで働くとしよう。シフト制で24時間稼働すると仮定しよう。 $\gamma$ -H2AXでは百人程度のボランティアスタッフが必要だと考えられる。

バイオ・ドシメトリーで試料が得られるまでの時間と結果が得られるまでの時間を考えてみよう（表4、表5）。

表4. バイオ・ドシメトリーで試料が得られるまでの時間

バイオ・ドシメトリー法	W1=事象発生時から試料が得られるまでの時間	W2=事象発生時から試料を採取しうる最長時間
EPR in vivo tooth	0	生涯
嘔吐までの時間	10 分間から 4 時間	正確な思いだし：2 - 10 日間?
$\gamma$ H2AX	3-30 分間	1 - 48 時間
リンパ球減少率	12 時間	48 時間
二動原体染色体	0-1 日間	時間補正されれば 6 月以内
核小体	0-1 日間	年

表5. バイオ・ドシメトリーで結果が得られるまでの時間

	P2 試料輸送	P3 試料調整	P4 分析	P5 結果報告	W3 総処理時間
EPR in vivo tooth	0 分	5 分間	<1 分間	0	<10 分間
嘔吐症状	0	0	0	0	<5 分間
$\gamma$ H2AX	2-12 時間	In P4 4 時間	2.5 分間	24-36 時間	1-2 日間
リンパ球減少率	2-12 時間	8 時間 [3つの結果]	10 分間	24-36 時間	1.5- 2 日間
二動原体染色体	1-96 時間	46-48 時間	1 時間	24-36 時間	5-9 日間
核小体	12-24 時間	70-76 時間	8-15 分間	24-36 時間	4-5 日間

それぞれの手法の対応は十分だろうか？

EPR in vivo tooth dosimetry では 10 分間があれば一人測れる。1 日 12 時間の稼働を仮定すると、一台で一日 72 人で、1 週間で 500 人程度が計測できることになる。

$\gamma$ -H2AX では、装置のスループットに依存する。同時に 5 千検体が処理可能な装置であると、24 時間で 6 グループの計測を考えると一日で 3 万検体が処理可能となる。

以上の考察からは、大規模な集団が影響を受けるような放射線緊急事象では、不測の事態に対応する必要があることや多数の検査ニーズに対してタイミングよく対応することが求められ、高スループットの  $\gamma$ -H2AX では結果を得るのに 2 日程度かかり、試料採取に膨大なマンパワーが必要、EPR in vivo tooth dosimetry は試料採取や測定に要する時間は短くてすむが、スループットが小さいことから、実際の対応は容易ではないことが改めて確認された。

この課題に対し、本研究班はヒトを対象として計測できる L バンド電子常磁性共鳴測定法 (EPR) によるシグナルから線量を推計する装置を国内で唯一開発・保有している。加えて電子スピン共鳴法を使った関連技術 (X band の EPR を使ったごく少量の血液の採取で検査できる抗酸化能測定キ

ット) を使った研究も進め、さらにはリン酸化型ヒストン H2AX ( $\gamma$ -H2AX) を用いた DNA 損傷モニタリング法による生体内 DNA 損傷を迅速かつ高感度にモニタリングする手法を検討してきた背景を有することから、それらの特徴を生かして研究した。

これまで危機管理として放射性物質による環境汚染を伴うような大規模災害を想定した対処方法が十分に確立していなかったことから、本研究では国として体制整備への貢献が期待される。以下、それぞれの分担研究課題について述べる。

#### 1) 電子スピン共鳴法を用いた線量推計法の開発

in vivo tooth dosimetry 装置の開発の歴史を図 4 に示す。左から、第一世代 (現在ではオキシメトリに使われている) (2001-2006)、第二世代 (2006-2010 まで開発され 2013 まで使用された)、第三世代 (2010-2014)、将来形 (2015 年にプロトタイプを作成) である。本研究では第二世代の装置が用いられた。第三世代の装置は、磁石の角度が自動的に調整され、繰り返し計測時の測定条件の再調整が不要で、測定時間がさらに短縮されている。

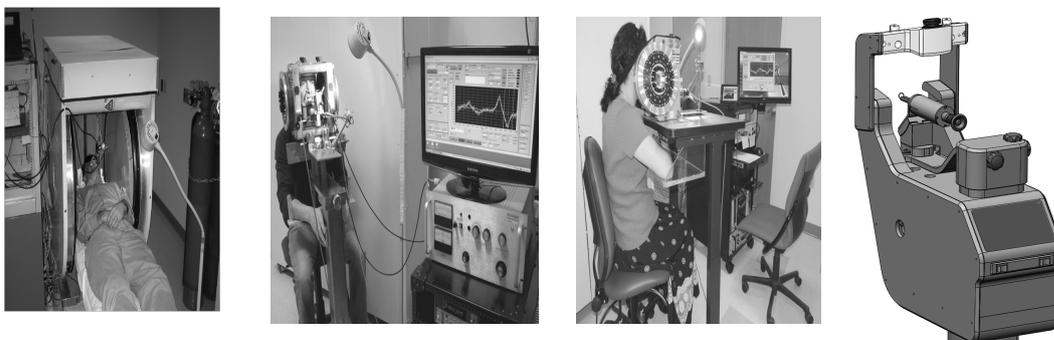


図 4. in vivo tooth dosimetry 装置の開発の歴史

米国でのフィールド実験（2014年）の様子を図5に示す。自家発電装置を用いた設定で、1.5日で80人のボランティアで計測がなされ、ボランティア一人あたり25ドルががんセンターに寄附された。このようなフィールド実験は消防署でも操作者を消防署員として実施されている。



図5. 米国でのフィールド実験（2014年）

以下、研究の実施状況を述べる。

a) エナメル質の厚みが信号に与える影響の検証

信号強度はエナメル質の厚さとともに増大し、厚さが最大のものと最少のものを比較すると1.3倍程度信号強度に違いが認められた。また、Cs-137線源に比べ医療でのX線では4倍程度応答が大きいことを確認した。

b) オンサイトでのin vivo EPR測定の課題の検討

その場で共に結果が確認できる特性を持つことからコミュニケーションのためのツールとしても役立つことが検証された。

(S/Nに影響を与える要因)

周辺での家電製品の使用や測定場所の電磁波強度がS/Nと関係することを確認した。電波暗室ではS/Nが2倍程度向上した。こ

れらは、本研究課題の最終目標である災害派遣型EPR線量評価ユニットの設計において考慮すべきことであると考えられた。

(医療での曝露の影響)

ボランティアを対象とした計測で歯科X線によると考えられる信号が検出され、歯科用X線装置での50回の照射で信号を検出しうることを確認した。この手法は、歯科領域や頭頸部領域で繰り返し放射線検査を受けた場合にも信号を検出しうると考えられる。

(甲状腺に集積した放射性ヨウ素による線量の評価)

歯の平均吸収線量は甲状腺のそれのおおよそ千分の3程度であった。甲状腺の等価線量が100mSvである場合に歯の平均吸収線量は0.3mGy程度になると考えられることから、放射性ヨウ素による放射線曝露をこの方法で確認することに大きな限界があると考えられる。また、Po-210など $\alpha$ 核種を用いたテロに労働者が曝露した場合にも、その適用には限界があると考えられる。

c) 紫外線の影響の検証

UV-Cの曝露で明瞭な曝露量-信号関係が確認された。紫外線による歯への照射でもL band EPRでも信号が検出しうることを確認されたが、労働者が曝露する環境としては、UV-Cは例外的なものとなると考えられる。このため、今後、UV-A、UV-Bに関しても検討する。

d) 高LET放射線の応答

290MeVの炭素線ではCs-137線源に比べ約0.4の応答であり、本方法が、宇宙飛行士でも対象になり得ると考えられた。

e) Xバンドでの測定

エナメル質削り出しの前処理は改善でき

る可能性がある。本院での検討では、短時間の前処理でも永久歯だと診断領域の X 線で 20mGy 程度の増加が弁別可能であった。

ただし、甲状腺に集積した放射性ヨウ素による線量の推定では、歯を用いることは不利である。この方法で 20mGy が検出できることは、I-131 による甲状腺の線量としては、0.6kSv 程度が検出できることにあたる。このことから、放射性ヨウ素による内部被ばくが、一定以下であったことを証明する手段としては優れているとは言えないと考えられた。

#### f) 動物の歯の測定

EPR の信号が検出された試料もあったが、より慎重な検討が求められると考えられた。

その一方で、被災動物が生活していた環境によっては、歯のエナメル質に比較的大きな線量を受けることも考えられる。

今後の展開としてはウシ以外の動物も対象にすることが考えられるが、この方法で線量を推計するには、それぞれの動物のエナメル質での炭酸ラジカルのバックグラウンド量を知るだけでなく、線量再構築上、それぞれの動物の生態も知る必要があると考えられる。

### 2) リン酸化ヒストン H2AX ( $\gamma$ -H2AX)を用いた生体内 DNA 損傷レベルの測定による線量評価

シンプルな微細構造である V 字構造 PDMS チップは今後構造間の大きさの改善やより微細な構造を作成するなどし、より効率的にリンパ球を分離・固定するための条件を検討する必要がある。また、表面改質が不十分であると細胞の拡散効率が低

下することから、オゾンクリーナーなどを用いた十分な表面改質も必要である。今年度は小型卓上遠心機として最低 6000rpm の遠心力のものを用いたが、細胞の拡散が必要以上に起こっていたため、より低速な遠心機の改良が必要である。

放射線診療による放射線曝露後の生体内 DNA 損傷レベル解析を行う臨床研究の予備的研究では、照射した線量相当の DNA 損傷が  $\gamma$ -H2AX アッセイによって検出され、今年度検討した細胞準備の条件および送付条件は問題ないことを確認した。今後、生体が受けた線量と  $\gamma$ -H2AX レベルの関係を確認し、トリアージのための定量バイオマーカーとしての評価を行っていく。

### 3) 被ばくによる生体内 DNA 損傷レベルの測定と X バンド EPR による被ばく後抗酸化能の動態解析

#### a) 全身被ばくマウスを利用した被ばく後生体内レドックス解析

マウス実験では再現性もよく概ね良好な結果が得られている。来年度は照射線量や採血ポイントを増やし、より信頼度の高いデータを蓄積する予定である。

一方、ヒトに当てはめた場合、原子力発電所の事故で爆発、同僚の被災、被ばく不安等のストレス負荷も抗酸化能の低下に影響を与えると考えられることから、抗酸化能の低下幅のうち、被ばく線量の寄与度とストレス、個体差等、他の要因の寄与度についても考察されることを期待したいとのコメントを中間評価で頂いた。

歯に蓄積する安定ラジカル生成物のようなマーカーを除き、活発な新陳代謝を行っている生体試料を用いて生体現象を追跡す

る限り、生成・消失・恒常性維持の生体作用によって、初期ダメージ量と時間経過を同時に見積もることは他の情報を組み合わせない限りは理論的に不可能である。当研究においては現象の追求は避け（別の挑戦的な萌芽研究として実施を予定する）、応答タイミングの異なる数種類のマーカーを組み合わせることで生体ストレス状況を解釈する方針としている。中間評価での指摘の通り、抗酸化能は様々な要因を反映する可能性が高い。しかし、逆に考えれば、此度の大規模災害後の市民の避難先での状況を振り返ってみても、トリアージは必ずしも被ばくした者に対してだけ必要であるわけではなく、感染症、抑鬱など様々なストレスによって破綻しつつある生体防御機構を、事前に察知することが重要であると考えており、医療的な対応が必要な方を選び出す観点での意義があるかもしれない。

また、抗酸化能では2-17日後のデータを取得していることから、トリアージへの応用の可能性の検討において、いつの時点で判断に適用できるかの、時間的なスケールを検討されたいとの指摘を中間評価で頂いた。

抗酸化能については、被ばく後1日以降2週間程度のトレンドを判断材料として用いる予定である。なお、数ヶ月～数十年後の長期炎症トレンドも、他の研究者（放影研楠ら）より一部公表されており、将来的には本測定システムでも適用したいが、本研究では短期影響を基にした災害後トリアージに資する生体情報の解析に傾注したい。

b) 放射線診療による放射線曝露後の生体内反応の解析

放射線診療を受けた患者を対象とした臨

床研究では照射した線量が大きくなく、局所への曝露であるにもかかわらず、IVR実施後に一部の指標に変化が出ており、非常に興味深い。しかしながら、患者が高齢であり基礎疾患がある点や点滴や造影剤などの放射線以外による影響を加味する必要があるため、慎重に解析が必要である。必要に応じて動物実験に立ち戻って解析をする必要があると考えている。

最後に、バイオ・ドシメトリーのこの他の意義に関して、2つの観点から考えたい。

一つ目は、過去の曝露の確認である。1987年度～1990年度にかけて、奥羽大学・歯学部の島野 達也教授により個人の生涯線量計としての歯の検討（研究課題番号：62440078）と題する研究が科研で実施された。この研究概要では、以下のように述べられている。『歯を用いる ESR 線量評価法では、個人の被曝線量を評価する上でその歯が受けた歯科 X 線を分離評価する必要があるが、一本の歯を頬側と舌側に分離して測定する方法は、撮影法からの X 線入射方向の問題はあるものの有効な方法である。この方法を実際の抜去歯に用いて線量評価を行い、良い結果を得ている。しかし、人がその生涯で受ける程度の被曝を測定評価するには、現在の ESR 法を持つ検出限界の問題が大きくかわる。特に、低線量域では測定信号は有機物の信号に大きく影響され、線量評価は過大評価の傾向を持つ。今後は、この有機物の信号の問題を解決して ESR 測定の検出限界を上げるとともに、生涯線量計としての歯について検討する為の基礎データの採取を継続して行う。さらに、一本の抜去歯から被曝線量を評価する方法

を確立して、国民線量を検討する上での基礎資料を作成し、医療被曝の実態についても評価していく。』

この研究は、生涯で受ける程度の比較的小さい線量の検出を目標としたものであり、バイオ・ドシメトリーでの新しい展開を目指したものだとも考えられる。その後の展開としては、2000年1月に *Isotope news* に尾内能夫先生が、自身の抜けた歯を保存しており、それを用いた線量推計を望んでおられることを書かれ、それを読まれた岩崎先生が EPR 測定法で線量を推計することにもつながった。尾内先生は、医学物理分野で仕事をされ、Ra-226 を扱うことで相当量の放射線を受けられており、自身の推計値と EPR 測定法との比較を望まれたのである。<sup>3</sup>

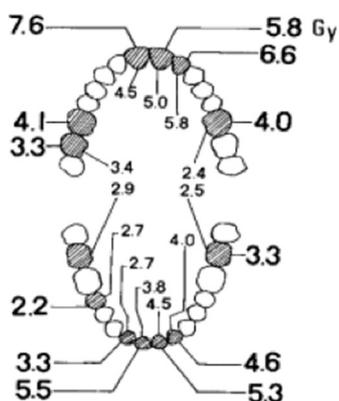


図 6. 尾内先生が保管しておられた脱落歯を用いて測定された線量推計結果

このエピソードは過去の曝露を調べることができることを物語っている。

過去の放射線業務従事者の中には、労働上の制約を受けることを懸念し、モニタリ

ングツールを外して作業した例もあるとされている。このような背景から、平成 10 年 8 月 31 日付、基安発第 21 号となる労働省労働基準局安全衛生部長から都道府県労働基準局長あての通達「放射線による被ばく事故防止の徹底について」においても被ばく線量の測定の徹底が示されている。この方法は、このようにモニタリングが不十分であった例に対しても曝露した線量に関して何らかの情報を与えるかもしれない。

二点目は、生体の防御反応である。バイオ・ドシメトリーでは、放射線により生体が受けたダメージだけではなく、その回復の状態や回復能力に関係した情報も得られることが期待される。やむを得ず比較的高い線量を受けた場合に、体がそれに対応していることのデータを確認することが放射線に曝露した方に役立つかもしれない。

## E. 結論

### 1) 電子スピン共鳴法を用いた線量推計法の開発

電子スピン共鳴法を用い歯を対象に測定する方法を検討し、以下の成果が得られた。

- 1) 日本人の前歯に適応したループ径が小さい共振器(6.0mm)も利用可能となった。
- 2) エナメル質の厚みが信号に与える影響を検証し、0.3mm の厚みの違いが信号に 1.3 倍程度の影響を与えることを確認した。また、Cs-137 線源に比べ医療での X 線では 4 倍程度応答が大きいことを確認した。
- 3) 院外でも測定を行い、周辺での家電製品の使用や測定場所の電磁波強度が S/N と関係することを確認した。電波暗室では S/N が 2 倍程度向上した。
- 4) ボランティアを対象とした計測で歯科 X 線によると考えられる

<sup>3</sup> IWASAKI M, MIYAZAWA C, CHIDA T, TAKAHASHI F, ONAI Y. Dental ESR Dosimetry of a Medical Physicist Who Received Occupational Radiation Exposure for Almost 40Y. *Health Physics* 83(4) 534-538(2002)

信号が検出され、歯科用 X 線装置での 50 回の照射で信号を検出しうることを確認した。5) 紫外線の影響も検証を試み UV-C の曝露で明瞭な曝露量-信号関係を確認した。6) 動物（牛）の歯でも測定を試みた結果を解析し、今後の課題を整理した。7) 歯科用タービンを使用したエナメル質試料作成法での X band での計測で 20mGy の線量増加が検出可能であり、前処理のスループットを改善できる可能性があることを見いだした。

地域でのボランティアを対象とした計測では、コミュニケーションを改善させる効果も確認できた。本装置が弁別できる線量は 1Gy 程度であり、福島県内の住民であっても本研究に参加することで線量評価や健康面に関する直接的な利益が全くない。そのことを理解し、さらに、研究での参加で電磁波曝露など、不利益を被るのみであることを強調しても、自らの被災体験から研究に協力したいとする地域の住民の協力を得ることができた。本測定は、一人あたりの測定が 10 分間程度で、結果をその場で確認できる。コミュニケーションに配慮することで、これまで行政機関や研究者が関係を作ることが課題であった住民（比較的内部被ばく線量が大きいと推測される集団である）でも、この研究が受け入れられた。

その一方、測定環境によるノイズの増加や紫外線の影響の除去、測定の感度が向上したことに伴う医療での放射線曝露の影響の除去が課題であることを再確認した。また、放射性ヨウ素のように特定の臓器に集中的にエネルギーが付与される場合には、感度が確保されないことも課題である。

今後、これまでの検討で見いだした課題

を解決していくことで、本研究課題の最終目標である災害派遣型 EPR 線量評価ユニットで最終的に急性被ばく 1Gy 以上を分別可能な、効果的な線量評価法・トリアージシステムとして社会実装するための成果が得られたと考えられる。

## 2) リン酸化ヒストン H2AX ( $\gamma$ -H2AX)を用いた生体内 DNA 損傷レベルの測定による線量評価

$\gamma$ -H2AX アッセイデバイスとしての PDMS チップの開発、細胞の拡散・固定を行うための小型遠心機を加工するなどし課題を探索した。今後さらなる微細構造の改良、遠心スピードの調整などを行い、血液から迅速にリンパ球を分離し解析できるデバイスの開発を目指す。

また、放射線診療による放射線曝露後の生体内 DNA 損傷レベルを  $\gamma$ -H2AX アッセイによってモニタリングすることが可能であることが示された。来年度は IVR による放射線曝露に基づく  $\gamma$ -H2AX の定量だけでなく EPR (Electron paramagnetic resonance) を用いた線量評価データとの相関性も検討していく予定である。

## 3) 被ばくによる生体内 DNA 損傷レベルの測定と X バンド EPR による被ばく後抗酸化能の動態解析

生体レベルでも放射線照射による酸化還元バランスの変化が認められた。来年度は継続してデータを収集し、放射線災害等におけるトリアージ法としての可能性を詳細に検討する。

## 謝辞

研究に協力頂いた被験者の皆様に厚く御礼申し上げます。また、中間評価においてコメントを下された評価者にも感謝申し上げます。

この研究には、平成 28 年 2 月 22 日に国立保健医療科学院で開催された院内セミナー『電子スピン共鳴法を用いた生体計測（オキシメトリと線量計測）』での議論も反映されています。セミナーで話題提供いただいた EPR Center for the Study of Viable Systems, Geisel School of Medicine at Dartmouth のハロルド・シュワルツ教授およびアン・フラッド教授やセミナーへの参加者にも感謝申し上げます。

## F. 健康危険情報 なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Shimura T, Kobayashi J, Komatsu K, Kunugita N. Severe mitochondrial damage associated with low-dose radiation sensitivity in ATM- and NBS1-deficient cells. *Cell Cycle in press*
- 2) Shimura T, Sasatani M, Kamiya K, Kawai H, Inaba Y, Kunugita N. Mitochondrial reactive oxygen species perturb AKT/cyclin D1 cell cycle signaling via oxidative inactivation of PP2A in low-dose irradiated human fibroblasts. *Oncotarget* 7 (3):3559-70, 2016

### 2. 学会発表

- 1) Yamaguchi I, Kunugita N, Shimura T, Terada H, Point/Counterpoint discussion: Fukushima risk communication strategy 2- Public health activities in local communities. ISEE 2015.8.30-9.3: Sao Paulo, Brazil.
- 2) Nakai Y, Miyake M, Yamaguchi I, Hirata H, Kunugita N, Williams B and Swartz HM. Comparison of noise due to environmental in EPR measurement. *BioDose* 2015. October 4-8, 2015 Hanover, NH, USA
- 3) Miyake M, Nakai Y, Yamaguchi I, Hirata H, Kunugita N, Williams B and Swartz HM. In-vivo radiation dosimetry using portable L band EPR -On-site measurement from volunteers in FUKUSHIMA Prefecture, Japan - *BioDose* 2015. October 4-8, 2015 Hanover, NH USA
- 4) Yamaguchi I, Sato H, Kawamura H, Hamano T, Suda M, Yoshii H, Miyake M, Nakai Y, Hirata H, Kunugita H. L-band EPR tooth dosimetry for neutron and heavy ion. *BioDose* 2015. October 4-8, 2015 Hanover, NH, USA
- 5) Shimura T, Kobayashi J, Komatsu K, Kunugita N. DNA damage signaling guards against perturbation of cyclin D1 expression by low-dose long-term fractionated radiation. 15th International congress of radiation research. May 25-29, 2015 Kyoto, Japan

- 6) 山口一郎, 佐藤斉, 川村拓, 濱野毅, 須田充, 吉井裕, 三宅実, 中井康博, 平田拓, 樺田尚樹. 歯を用いた L-band EPR による線量推計法の開発. 第 48 回 日本保健物理学会研究発表会; 2015 年 6 月; 東京. 日本保健物理学会研究発表会 要旨集. p.111
- 7) 山口一郎. 医療機関の状況について [特別セッション] RI の安全とセキュリティに関する情報共有—これから求められる RI のセキュリティ対策について—. 第 52 回アイソトープ・放射線研究発表会; 2015 年 7 月; 第 52 回アイソトープ・放射線研究発表会要旨集.
- 8) 山口 一郎, 佐藤斉, 川村拓, 濱野毅, 須田充, 吉井裕, 三宅実, 中井康博, 平田拓, 樺田尚樹. 歯を用いた L-band EPR による線量推計法の基礎的な検討. 第 14 回日本放射線安全管理学会; 2015 年 12 月; 茨城. 日本放射線安全管理学会要旨集. p.67
- 9) 三宅 実、中井康博、山口一郎、岩崎昭憲、中井 史、小川尊明、大林由美子、樺田尚樹 ポータブル型生体 EPR (Electron Paramagnetic Resonance: 電子常磁性体共鳴法)を用いた放射線被ばく線量測定—福島在住のボランティアからの計測—、第 70 回 NPO 法人日本口腔科学会学術集会; 2016 年 4 月 16-17 日、 福岡 (発表予定)
- 10) 樺田 尚樹、山口 一郎、志村 勉、三宅 実、中村 麻子、盛武 敬. 緊急被ばく医療が必要とされるような事故発生時におけるトリアージのための線量評価手法の検討. 第 89 回日本産業衛生学会; 2016 年 5 月 24-27 日、 福

島 (発表予定)

### 3.その他

- 1) 山口一郎. 原子力災害後のリスク・コミュニケーション活動-不信の連鎖を解くために何が出来るか?-. 筑波放射線安全交流会; 2015 年 7 月; 茨城.

### H. 知的財産権の出願・登録状況

#### 1. 特許取得

本研究で開発される $\gamma$ -H2AX アッセイデバイスおよびシステムについては特許出願予定である。また、本研究で確立したトリアージ法は H28 年度に特許出願予定である。

#### 2. 実用新案登録

なし

#### 3. その他

なし

## II. 分担研究報告



災疾病臨床研究事業費補助金

分担研究報告書

電子スピン共鳴法を用いた線量推計法の開発

研究分担者	山口一郎	国立保健医療科学院	生活環境研究部	上席主任研究官
研究分担者	三宅実	香川大学医学部	歯科口腔外科学講座	教授
研究分担者	志村勉	国立保健医療科学院	生活環境研究部	上席主任研究官
研究協力者	平田拓	北海道大学	大学院情報科学研究科	教授
研究協力者	小林杏	神奈川歯科大学		非常勤講師
研究協力者	井上一彦	鶴見大学		非常勤講師
研究協力者	豊田新	岡山理科大学	理学部	教授

研究要旨

事後的な線量評価手法として、口腔内の歯をそのまま用いる L バンド・マイクロ波を用いた生体 EPR（電子常磁性共鳴分光）線量計測法が開発されている。本院もこの研究に参画し、本システムが本院にも設置されている。これまでの研究で、診断領域の X 線曝露では ex vivo での測定では 1 セットの測定（1 分間）のみでもトリアージで求められる 2Gy の曝露を見落とす確率を十分小さくできている。この方法は、核災害や大規模な放射線被曝事故等における緊急被ばく医療のトリアージにも利用が可能だと考えられ、緊急被ばく医療が必要とされるような事故発生に労働者が巻き込まれた際に、トリアージのための線量評価にも用いることが考えられる。そこで、L バンド EPR を主に、電子スピン共鳴法を用いた線量推計法の事故時等の適用について検討し、実用化に向けた改良を試みた。

その結果、以下の成果が得られた。1) 日本人の前歯に適応したループ径が小さい共振器 (6.0mm) も利用可能となった。2) エナメル質の厚みが信号に与える影響を検証し、0.3mm の厚みの違いが信号に 1.3 倍程度の影響を与えることを確認した。また、Cs-137 線源に比べ医療での X 線では 4 倍程度応答が大きいことを確認した。3) 院外でも測定を行い、周辺での家電製品の使用や測定場所の電磁波強度が S/N と関係することを確認した。電波暗室では S/N が 2 倍程度向上した。4) ボランティアを対象とした計測で歯科 X 線によると考えられる信号が検出され、歯科用 X 線装置での 50 回の照射で信号を検出しうることを確認した。5) 紫外線の影響も検証を試み UV-C の曝露で明瞭な曝露量-信号関係を確認した。6) 290MeV の炭素線では Cs-137 線源に比べ約 0.4 の応答であり、本方法が、宇宙飛行士でも対象になり得ると考えられた。7) 動物（牛）の歯でも測定を試みた結果を解析し、今後の課題を整理した。8) 歯科用タービンを使用したエナメル質試料作成法での X band での計測で 20mGy の線量増加が検出可能であり、前処理のスループットを改善できる可能性がある。

地域でのボランティアを対象とした計測では、コミュニケーションを改善させる効果も確認できた。本装置が弁別できる線量は 1Gy 程度であり、福島県内の住民であっても本研究に参加することで得られる線量評価の質の向上や健康面に関する直接的な利益が期待できない。そのことを承諾し、さらに、研究での参加で電磁波曝露など、不利益を被る可能性があることを理解した上でも、自らの被災体験から研究に協力したいとする地域の住民の協力を得ることができた。本測定は、一人あたりの測定が 10 分間程度で、結果をその場で確認できる。コミュニケーションに配慮することで、これまで行政機関や研究者が関係

を作ることが課題であった住民（比較的内部被ばく線量が大きいと推測される集団である）でも、この研究に参加された。

その一方、測定環境によるノイズの増加や紫外線の影響の除去、測定の感度が向上したことに伴う医療での放射線曝露の影響の除去が課題であることを再確認した。また、放射性ヨウ素のように特定の臓器に集中的にエネルギーが付与される場合には、感度が確保されないことも現段階の課題である。

今後、これまでの検討で確認された課題を解決していくことで、本研究課題の最終目標である災害派遣型 EPR 線量評価ユニットとして最終的に急性被ばく 1Gy 以上が分別可能な、効果的な線量評価法・トリアージシステムとして社会実装することが可能になると考えられる。

#### A. 目的

放射線が照射されると生体内に不対電子が形成される。形成された不対電子は、短時間で消失するものがほとんどであるが、放射線が生体に照射されると生体内に不対電子が形成される。放射線の照射によりできるラジカルは、生体内では短時間で消失するものがほとんどであるが、歯のエナメル質では形成された不対電子が残存する。この残存した不対電子を電子スピン共鳴法により計測し、線量を推計する方法は EPR(Electron paramagnetic resonance) dosimetry と呼ばれ、X-band 法により抜去歯を用い広島・長崎の原爆被爆者の線量評価にも応用されてきており、IAEA-TECDOC-1331. Use of electron paramagnetic resonance dosimetry with tooth enamel for retrospective dose assessment (Report of a co-ordinated research project)としてまとめられるとともに、国際標準化機構により、ISO/TC 85/SC 2- Radiological protection において、ISO13304-1:2013. Radiological protection - Minimum criteria for electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy for retrospective dosimetry of ionizing radiation - Part 1: General

principles として規格が制定され、ISO WG18 の EPR Subgroup で検討されている。

この方法は、歯エナメル質のハイドロキシアパタイト結晶格子内部に放射線によって形成される炭酸ラジカルが安定であることを利用し、それを電子スピン分光 (EPR) 装置で計測している。

しかし、X-band 法は、電磁波の生体内での透過の問題により、測定するためには試料を細かく砕き、試料管に入れて計測する必要があることから生体での測定は原理的に不可能であった。これに対して、米国ダートマス大学のシュワルツ教授らは、事後的な線量評価手法として、口腔内の歯をそのまま用いる L バンド・マイクロ波を用いた生体 EPR 線量計測法を開発している。L バンド・マイクロ波は生体内でも透過する性質を持つために、試料を砕く必要がなく、そのまま計測ができる。この原理を利用して生体のオキシメトリーの研究も展開されている。

この方法は、核災害や大規模な放射線被曝事故等における緊急被ばく医療のトリアージや事後的な線量評価に利用できると考えられる。当部に開発された機器を設置しており、シュワルツ教授らと共同研究を実施中である。装置の概略を図で示す。



図 1. 装置の全体像（福島県内での測定の風景）



図 2. マグネット  
永久磁石と掃引用の電磁石、磁場変調用の電磁石から形成されている。

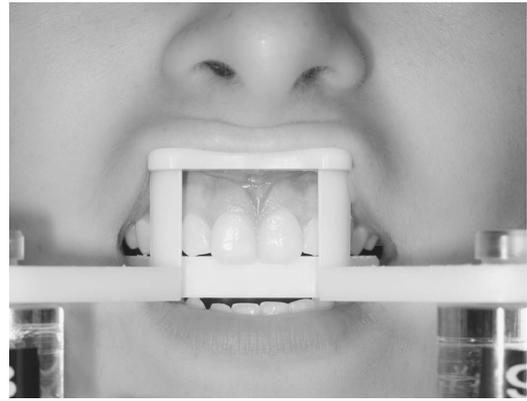


図 3. バイトブロック  
歯を露出させるために用いている。

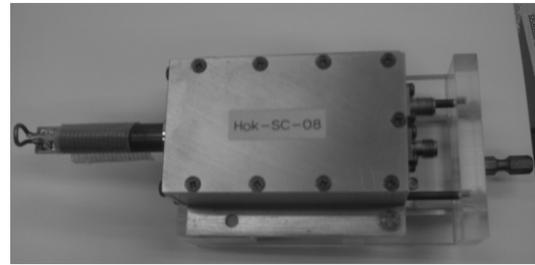


図 4. リゾネータ  
左側のリングが表面型コイルであり、ラップを介して歯に接触させる。マイクロ波が照射され、その吸収を計測する。このリゾネータは北大の平田教授が作成したものである。

これまでの研究で、診断領域の X 線曝露では *ex vivo* での測定では 1 セットの測定（3 秒間のスキャンを 20 回繰り返すので、1 分間の計測となる）のみでもトリアージで求められる 2Gy の曝露を見落とす確率を十分小さくできている。

次ページの図は北大で開発されたリゾネータを用いた計測例である。いずれも 150kV で発生させた X 線を用いて 30 回のスキャンで得られたものである。

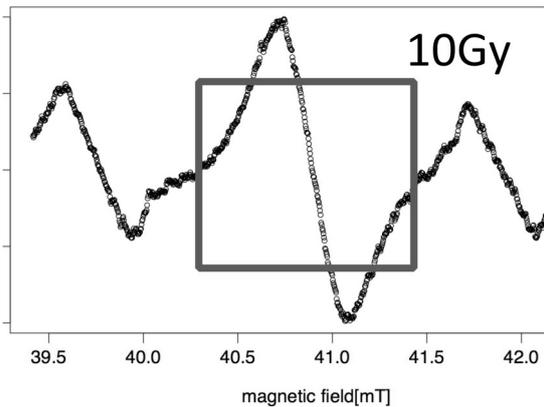


図 5. 10Gy 照射した歯での計測例

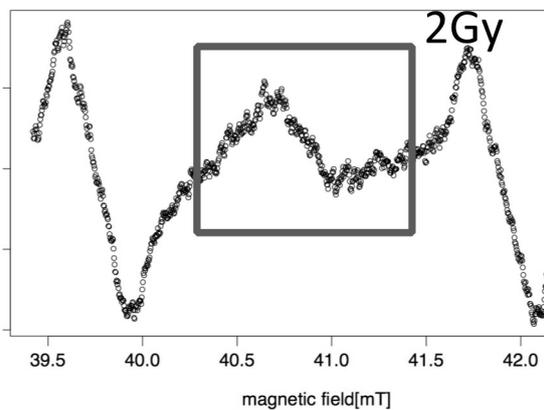


図 6. 2Gy 照射した歯での計測例

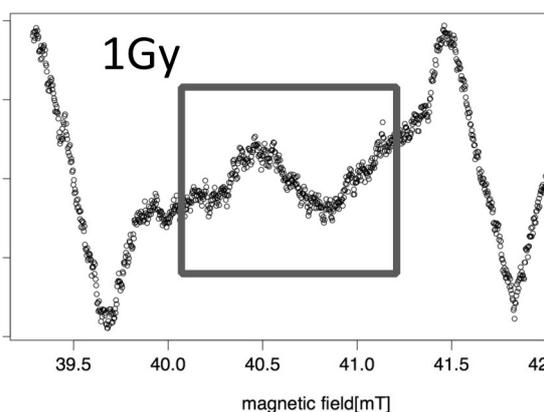


図 7. 1Gy 照射した歯での計測例

この方法は、核災害や大規模な放射線被曝事故等における緊急被ばく医療のトリア

ージにも利用が可能だと考えられ、緊急被ばく医療が必要とされるような事故発生に労働者が巻き込まれた際に、トリアージのための線量評価にも用いることが考えられる。そこで本研究課題の最終目標である災害派遣型 EPR 線量評価ユニットで最終的に急性被ばく 1Gy 以上を分別可能な、効果的な線量評価法・トリアージシステムとして社会実装するために、L バンド EPR を主にして、電子スピン共鳴法を用いた線量推計法の事故時等の適用について検討した。

特にオンサイトの計測では、災害を経験した人々に、この測定法に関するフィードバックをいただき、説明や測定のあり方の改善を試みることにした。

## B. 研究方法

### B-1. エナメル質の厚みが信号に与える影響の検証

日本人の前歯に適応したループ径が小さい共振器(6.0mm)を共同研究者である平田教授が開発されたことから、この共振器を用いて、エナメル質の厚みが信号に与える影響を検証した。この研究は、研究論文として公表される予定であることから、詳しい記述はそちらに譲るが、健常な 10 本の日本人の上顎中切歯を用いて X 線を 1, 5, 10, と 20 Gy と段階的に照射し、照射前と照射後でそれぞれ EPR 信号を計測した。X 線照射は、日立メディコの X 線装置 (MBR-1505R2) を用い、管電圧 150 kV、管電流 4 mA、フィルタを 0.1 mm の銅と 0.3 mm のアルミニウムとした。EPR 信号は、本院に設置されているヒトに対して用いることができる 1.2 GHz の L-band EPR spectrometer を用いて取得した。サーフェ

スコイル型リゾネータは、北大の平田教授が開発したものをを用いた。歯の計測は正確な位置決めをするために、バイトブロックを用いて、磁場が均一となる中心磁場に試料を位置させた。それぞれの歯は、あらかじめ EPR 信号が出ないことを確認した歯科用 putty mould を用いて、バイトブロックに保持した。それぞれの歯について、異なった 3 箇所である、歯肉に隣接する部分、中央部、切縁部で計測した。EPR 信号は、標準的な設定である、掃引幅 2.5 mT、掃引時間 3 s、掃引回数 30 回、20kHz での磁場変調 0.4 mT とし、この計測を 5 セット繰り返した。参照用の試料として、プラスチックチューブに、標準ラジカル物質として、4-oxo-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-d16-1-15N-1-oxyl (<sup>15</sup>N-PDT, あるいは perdeuterated tempone としても知られている)の溶液を封入したものを、表面型ループの近くに設置した。得られたスペクトルは、非線形最小二乗法によりフィッティングして解析し、微分波形のピーク間距離を信号の強度とした。変動の影響を小さくするために、X 線を 20Gy 照射した歯での信号の大きさを PDT の信号の大きさを表現し、試料での放射線誘発信号と PDT の信号の比と相対的な大きさを比較した。

エナメル質の厚みは、マイクロフォーカス CT (inspeXio SMX-90CT、島津製作所)を用いて得られた画像を画像解析ソフト (Osirix™ imaging software (Ver. 5.8.5 on MacOS.10.9))を用い Chen の方法により、それぞれの部位において計測した。

予想される EPR 信号の大きさをシミュレーションでも検討した。シミュレーションは、ANSYS HFSS™ 3-D full-wave

model microwave field simulator (Ver. 13.0.0)を用い、歯のエナメル質の層を 3-D モデルで再現した。

## B-2. オンサイトでの in vivo EPR 測定の課題の検討

モバイル化された in vivo tooth EPR dosimetry 装置を福島県に運び測定を実施した。この装置は、EPR Center for the Study of Viable Systems, Geisel School of Medicine at Dartmouth で開発されたもので、1.15 GHz (L-band) のマイクロ波が 41 mT の磁石の間に照射される。磁石の重量は 30kg であり、磁石の間は 17 cm である。用いたサーフェスコイル型リゾネータは、上顎切歯での計測のためにデザインされたもので、検出器のループアンテナは、内径が 6.0 mm であり、これも、EPR Center at Dartmouth で開発された。装置の総重量は約 100kg である。なお、ダートマス大学で新しく開発されている装置は、総重量が 40 kg を切っている。

この装置の検出限界は、in vivo ではよい条件でも 1Gy 程度と考えられ、原発事故の影響を確認することはできず、福島県内の住民であっても本研究に参加することで得られる線量評価や健康面に関する直接的な利益が期待できない。その一方で電磁波曝露などの不利益を被る。このことを十分に説明した上で、災害を経験なさった立場から、測定に対する印象などを率直に語って頂くようにした。また、気づいたことのフィードバックを受けるために構造的なインタビュー形式で感想を述べて頂いた。構造的なインタビューでの調査項目は、計測の快適さ、装置環境、簡便さ、測定前・中・

後のそれぞれの不安、閉塞感、不快感、測定時間、衛生面であり、それぞれ1~4や1~10で点数を付けて頂いた。なお、住民を対象とした測定では、掃引回数を20回とし、その測定を3セット繰り返すようにした。

### B-3. 紫外線の影響の検証

本方法の基礎特性把握のため臼歯に紫外線のうちもっとも影響が生じやすいと考えられるUV-Cを曝露させた。紫外線は、フナコシFS-800で照射した。この照射装置は、UV-C(254nm)を8W照射する機器である。試料は3本で、それぞれの曝露時間は、60分間、120分間、240分間とした。曝露後にL band EPR dosimetryを行った。

### B-4. 高LET放射線の応答

高LET放射線として290MeVのカーボンイオンを上顎切歯に照射した。照射は、放射線医学総合研究所のHIMAC (Heavy Ion Medical Accelerator in Chiba)で行った。歯がブラッグピークに位置するようにし、10Gy、20Gy、30Gyをそれぞれ6本の歯に照射した。また、計測結果をPHITSによるシミュレーション計算とも比較した。

### B-5. Xバンドでの測定

歯科用タービンを用いて削り取られたエナメル質にX線を段階的に10mGy, 20mGy, 30mGy, 50mGy, 80mGyと照射し、それぞれ照射後にX band EPRで計測した。測定の条件は、電磁波出力:2mW、磁場変動:0.2mT、掃引幅:5mT、時定数:0.03s、掃引回数40回とし、その測定を3回繰り返した。データの解析は、Alexander Ivannikov博士が開発したコードを用いた。

### B-6. 動物の歯の測定

被災動物の歯を非破壊的にL band EPRで計測した結果を解析した。なお、この測定結果は、『東日本大震災福島第一原子力発電所事故の被災動物の歯を用いた電子スピン法による被ばく線量評価法の確立』として公表されている<sup>1</sup>。ここでは、そこで得られた結果の再解析を試みた。

(倫理面への配慮)

厚生労働省・文部科学省の「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」にもとづき、国立保健医療科学院における倫理委員会に、また各分担研究者所属機関の倫理委員会に申請・承認を経て実施している(国立保健医療科学院(NIPH-IBRA#12092)および香川大学医学部(Heisei#24・4)にて承認済み)。さらに民間保険にも加入した。

実施にあたっては、倫理指針に則り、調査開始に当たり、本研究の目的・意義・方法・侵襲度・予測される危険性などについて説明し十分な理解を得るようにした。参加は、本人に不利益を被らせることがないように配慮した。また、いつでも自由意志で参加の同意の撤回ができ、途中で参加を中止しても、本人に何ら不利な取り扱いを受けないことを保障した。このような内容について十分に説明を行い、調査を実施し、情報の漏洩がないように努めた。データは被験者が特定できないように、個人情報識別管理者の管理の下で、被験者番号を付けて連絡可能匿名化し分析した。

<sup>1</sup>

[https://www.idac.tohoku.ac.jp/ja/joint/product/pdf\\_h25/35.pdf](https://www.idac.tohoku.ac.jp/ja/joint/product/pdf_h25/35.pdf)

## C. 研究結果

### C-1. エナメル質の厚みが信号に与える影響の検証

信号強度はエナメル質の厚さとともに増大し、厚さが最大のものと最少のものでは1.3倍程度信号強度に違いが認められた。また、Cs-137線源に比べ医療でのX線では4倍程度応答が大きいことを確認した。

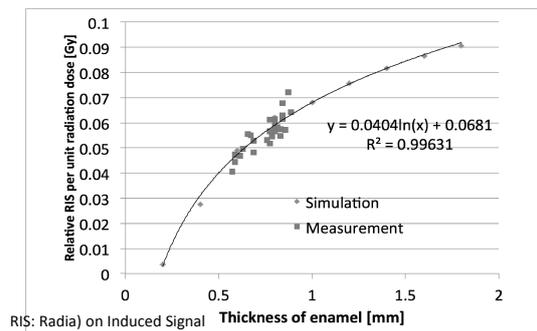


図 8. エナメル質の厚みと信号との関係  
線上の点はシミュレーション計算で求めたものである。

### C-2. オンサイトでの in vivo EPR 測定の課題の検討

装置を院外に運び出し自発的被験者を対象に計測を行った（福島県内では3回）。全ての被験者は18歳以上であり、実験プロトコルを理解し、文書により同意を得た。被験者の総数は34名（男性13名、女性21名、平均年齢：50.2歳）であった。これらの被験者には、少なくとも一本の健全な上顎切歯があった。全ての被験者が、事故後、福島県内で居住していた。居住区域は、東電福島第一原子力発電所から30-80kmの範囲であった。

セッティング時に装置が不調となりノイズが増大する現象が確認された。室温が30度近かったために冷房をしたところ、ノイ

ズが低減した。また、測定室付近で掃除機を使うとノイズが増加した。このトラブル以外は順調に計測ができた。測定の風景を示す。



図 9. 院外での計測の風景

測定に協力頂くことでの利益は全くなく、電磁波曝露などの不利益を被ることを理解した上で研究の協力が得られた。ここでの測定は、災害を経験なさった立場から、測定に対する印象などを率直に語って頂くようにしたが、様々な意見を伺うことができた。避難生活を送っておられる地域では、住民が集まる機会になったこともあり、今後に向けての話し合いが自発的になされていた。また、気持ちを整理するために、自らの体験を語って下さった方もおられた。

得られたスペクトル例を示す。

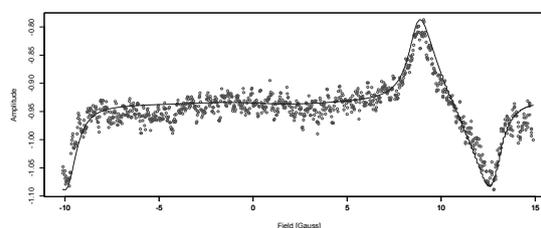


図 10. 福島県内での計測例

被験者からのフィードバックを表に示す。

測定に関して大きな問題はなかった。この計測は様々なノイズの影響を受けるために、測定中、できるだけ静止することが求められるが、測定時間も受け入れられた。

表 1. 被験者からのフィードバック項目	点数	平均
計測の快適さ	1 不快～5 快適	3.0
装置環境	1 不快～5 快適	3.4
簡便さ	1 難解～5 容易	3.9
不安 (測定前)	1 なし～4 あり	2.2
不安 (測定中)	1 なし～4 あり	2.0
不安 (測定後)	1 なし～4 あり	1.8
閉塞感	1 なし～4 あり	1.8
不快感	1 なし～4 あり	1.8
測定時間	1 短い、2 長い、3 長すぎる、4 受け入れできない	1.3
衛生面	1 清潔～10 不潔	3.6

#### 意見例

- ・ 舌の位置がわからない
- ・ バイトブロックが歯肉にあたって痛い
- ・ 口が渇く
- ・ 唾液が溜まる
- ・ より高い感度を望む

#### C-3. 紫外線の影響の検証

紫外線の影響も検証を試み UV-C の曝露で明瞭な曝露量-信号関係を確認した。

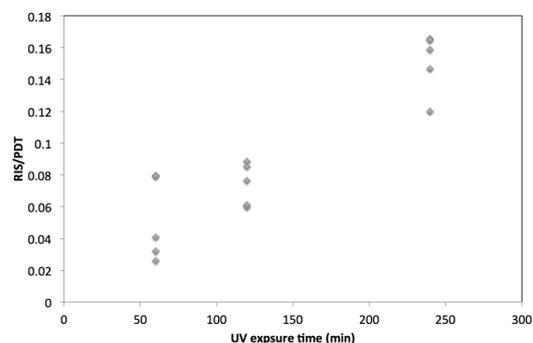


図 11. 紫外線 (UV-C) 照射時の EPR 信号

#### C-4. 高 LET 放射線の応答

実験の様子を示す。



図 12. HIMAC での炭素線照射の準備風景

290MeV の炭素イオンが  $1.8 \times 10^9$ pps で照射され、線量に応じた応答が確認できた。

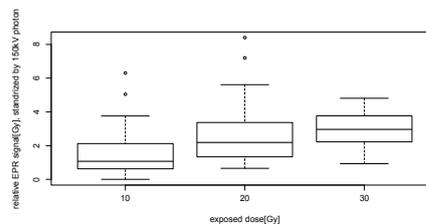


図 13. 炭素イオン照射に対する応答

290MeV の炭素線では Cs-137 線源に比べ約 0.4 の応答であり、本方法が、宇宙飛行士でも対象になり得ると考えられた。

PHITS と EGS5 を用いたシミュレーションの結果では、歯へのエネルギー付与のうち 86%が炭素によるもので、7%が  $\alpha$  線によるもので、5%が光子によるものであった。炭素によるエネルギー付与分布を図に示す。

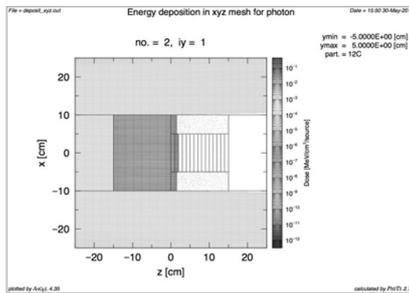


図 14. 炭素によるエネルギー付与分布

ハイドロキシアパタイトが、Z 軸上で 0 から 15 cm で、X 軸と Y 軸がそれぞれ -5 から 5 cm の範囲に配置されており、それらの周囲を xy 平面で 5cm 厚くした範囲がポリエチレンで覆われている。試料であるハイドロキシアパタイトがブラッグピークとなるように 15cm の厚みのポリエチレンが Z 軸で -15 から 0cm、X 軸と Y 軸がそれぞれ -10 から 10 cm の範囲に置かれている。

PHITS は原子力研究開発機構などにより開発された放射線粒子の相互作用を模擬するモンテカルロ法を用いた計算コードである<sup>2</sup>。重粒子の核反応も模擬している。EGS5 は高エネルギー加速器研究機構などにより開発された光子と電子の輸送コードである<sup>3</sup>。ここでは炭素線が核反応を起こし生じた電子や光子の輸送計算で用いた。この図では、炭素の照射により、試料を埋め込んだファントムの前に設置されたポリエチレンで放射線のエネルギーが失われていることを示している。このポリエチレンやファントムとの散乱で周囲の放射線が飛び散り、空間中の空気にも放射線のエネルギーが与えられている。試料である歯を埋め込んだファントムでは、試料の位置をブラッグピークに合わせており、その深さより深い箇所では付与される放射線のエネルギーが相

<sup>2</sup> <http://phits.jaea.go.jp/indexj.html>

<sup>3</sup>

<http://rcwww.kek.jp/research/egs/egs5.html>

対的に小さいことが示されている。

### C-5. X バンドでの測定

図に示すように、照射した線量に応じて、EPR 信号が増加した。歯科用タービンでエナメル質を削り出すだけの方法でも、X 線の照射で 20mGy の増加が検出可能であった。

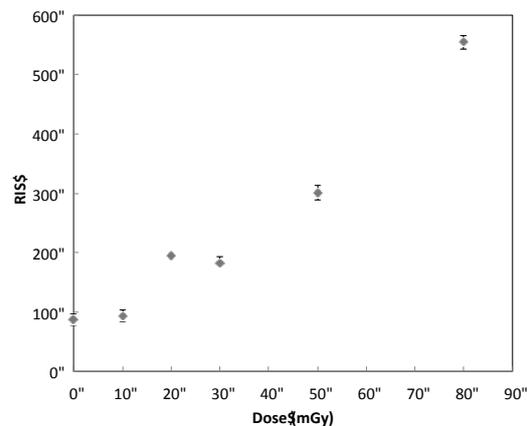


図 15. X band EPR dosimetry の測定結果

### C-6.動物の歯の測定

EPR 信号が見られた試料もあったが、動物の試料では、明確な曝露の履歴がないものでも信号が検出される例があった。X 線を追加照射した結果では、線量が低い領域で信号が相対的に大きくなっていった。

## D. 考察

### D-1. エナメル質の厚みが信号に与える影響の検証

エナメル質の厚みが EPR 信号に与える影響が定量的に確認された。歯は咬耗などによりエナメル質の量が変化する。エナメル質が多い場合には、EPR 信号は飽和すると考えられたが、エナメル質が少ないと生成されるラジカル数が少なくなることから、

EPR 信号を小さくなり線量を過小評価する可能性がある。事後的な評価では、超音波を使うなどエナメル質の厚みを確認することで、過小評価を避けたり、線量推計の定量性を向上させることが考えられる。

## D-2. オンサイトでの *in vivo* EPR 測定の課題の検討

(S/N に影響を与える要因)

周辺での家電製品の使用や測定場所の電磁波強度が S/N と関係することを確認した。電波暗室では S/N が 2 倍程度向上した。空間の電磁界強度は、電波暗室では広い周波数帯にわたって半分程度に低減されており、空間の電磁界強度を減らすことで、EPR 信号の S/N が向上させられると考えられた。また、実験室での測定では、周辺の機器の作動などに伴い S/N が低下し、スパイク状のノイズも混在することがあったが、電波暗室での計測では、その現象が観察されず、電源環境の改善も S/N を向上させることが考えられた。また、人工気象室での検証から室温を制御することでノイズの変動が低減できることが示唆された。

図に測定場所別の S/N を示す。左から NIPH (国立保健医療科学院) の実験室 (1)、(2)、放医研 NASBEE、NIPH 電波暗室 (1)、(2)、福島県内 (1)、(2)、(3)、(4) である。NIPH の実験室は、S/N が小さく、放医研 NASBEE は幅広い分布となった。NIPH 電波暗室は S/N が大きくばらつきが小さかった。福島県内での計測は、NIPH の実験室よりもよい条件であった。

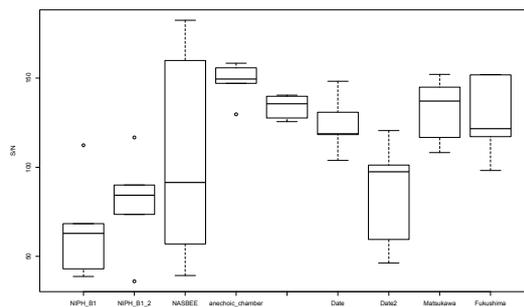


図 16. 測定場所による S/N の違い

NIPH の実験室と NIPH 電波暗室でのスペクトルの違いを示す。

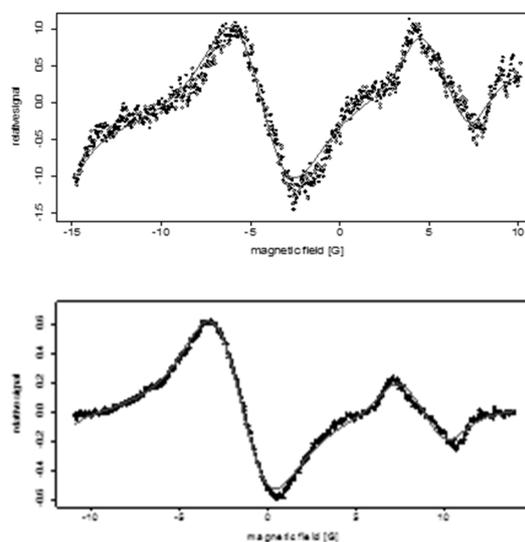


図 17. S/N がよくない例(上)とよい例(下)の対比

以上のように、条件により S/N の大きさが異なり、対策により、改善されうることを検証した。これらは、本研究課題の最終目標である災害派遣型 EPR 線量評価ユニットの設計において考慮すべきことであると考えられた。なお、トリアージとして用いる EPR dosimetry に関して、装置の無線化も利用した装置の小型化がダートマス大学で進められており、よりコンパクト化がなされることも期待される。

(医療での曝露の影響)

ボランティアを対象とした計測で歯科 X 線によると考えられる信号が検出され、歯科用 X 線装置での 50 回の照射で信号を検出しうることを確認した。X 線 CT では、長時間の検査で脱毛や皮膚への反応が観察される事例が報告されている。この手法は、放射線治療やこのような手技だけではなく、歯科領域や頭頸部領域で繰り返し放射線検査を受けた場合にも信号を検出しうると考えられる。

(甲状腺に集積した放射性ヨウ素による線量の評価)

この手法は歯に与えられた電離エネルギーから放射線量を推計する方法であり、外部被ばくと内部被ばくの双方に適用しうるが、照射の幾何学的な影響も受ける。東電福島原発事故では、比較的線量が高かった労働者では、放射性ヨウ素の吸入による曝露の寄与が大きく、甲状腺の等価線量が主たる線量となった例がある。このことから、東京電力福島第一原子力発電所事故に伴う住民の健康管理のあり方に関する専門家会議 第 3 回では、以下のような質問がなされている<sup>4</sup>。

丹羽委員 これは、私、素人なので、逆に専門家の方にお聞きしたいのですが、例えば甲状腺に 100mSv ぐらい入っていて、それから口腔部へどれぐらいの線量が行くか。それで、ESR の感度が最近 10mSv (原文の単位を修正) なんて低いところまでできるという話があります。どれぐらいです

かね。

(出典：東京電力福島第一原子力発電所事故に伴う住民の健康管理のあり方に関する専門家会議 第 3 回議事録)

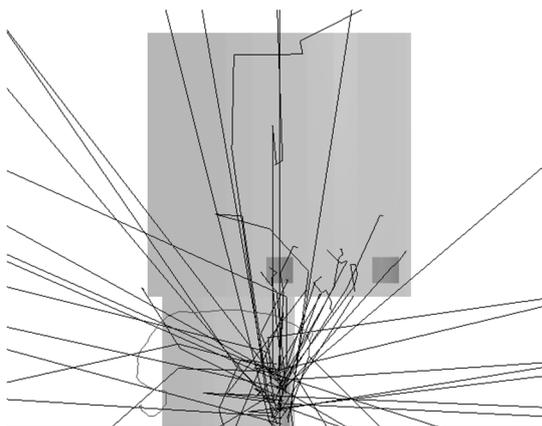


図 18. 甲状腺に集積した I-131 からの光子 (左) と電子 (右) の飛跡

EGS5 を用いて、I-131 が甲状腺に集積した場合の甲状腺の平均吸収線量と歯への平均吸収線量を比較したところ、図に示すような幾何学的条件では、歯の平均吸収線量は甲状腺のそれのおおよそ千分の 3 程度であった。この関係は、条件によって異なるラフなものではあるが、甲状腺の等価線量が 100mSv である場合に歯の平均吸収線量は 0.3mGy 程度になると考えられることから、放射性ヨウ素による放射線曝露をこの方法で確認することに大きな限界があると考えられる。また、Po-210 など  $\alpha$  核種を用いたテロに労働者が曝露した場合にも、その適用には限界があると考えられる。

### D-3. 紫外線の影響の検証

UV-C の曝露で明瞭な曝露量-信号関係が確認された。紫外線による歯への照射でも

4

<http://www.env.go.jp/chemi/rhm/conf/conf01-03b.html>

L band EPR でも信号が検出しうる事が確認されたが、労働者が曝露する環境としては、UV-C は例外的なものとなると考えられる。このため、今後、UV-A、UV-B に関しても検討する。

#### D-4. 高 LET 放射線の応答

290MeV の炭素線では Cs-137 線源に比べ約 0.4 の応答であり、本方法が、宇宙飛行士でも対象になり得ると考えられた。

#### D-5. X バンドでの測定

エナメル質削り出しの前処理は改善できる可能性があると考えられた。本院での検討では、短時間の前処理でも永久歯だと診断領域の X 線で 20mGy 程度の増加が弁別可能であった。

その一方で、既に記したように (D-2)、甲状腺に集積した放射性ヨウ素による線量の推定において歯を用いることは不利な面がある。この方法で 20mGy が検出できることは、I-131 による甲状腺の線量としては、0.6kSv 程度が検出できることにあたる。このことから、放射性ヨウ素による内部被ばくが、一定以下であったことを証明する手段としては優れているとは言えない。

#### D-6. 動物の歯の測定

EPR の信号が検出された試料もあったが、より慎重な検討が求められると考えられた。L band EPR による測定は非破壊的なだけでなく試料に不可逆性の変化をもたらさないので繰り返して計測することができる。

その一方で、被災動物が生活していた環境によっては、歯のエナメル質に比較的

きな線量を受けることも考えられる。例えば、放射性セシウムが降下した地表に寝ることを考えると、被災動物での皮膚の細胞への線量は、Cs-137 の降下量を 1MBq/m<sup>2</sup> と仮定し<sup>5</sup>、ICRU report 56 に示されている係数を用いると、接触部の皮膚の吸収線量は、0.14mGy/h 程度と推定される。このことから、1 日 8 時間の接触を仮定すると 1.1mGy/d 程度となり、4 ヶ月間の接触で 130mGy/4M 程度の線量となり得る。このように歯が線源と近いと β 線の影響を受けるために比較的線量が大きくなり得る。また、咀嚼時の曝露の推計も課題である。

今後の展開としてはウシ以外の動物も対象にすることが考えられるが、この方法で線量を推計するには、それぞれの動物のエナメル質での炭酸ラジカルのバックグラウンド量を知るだけでなく、線量再構築上、それぞれの動物の生態も知る必要があると考えられる。以上、動物（牛）の歯でも測定を試みた結果を解析し、今後の課題を整理した。

#### D-7. 今後の展望

(過去の線量がわかること)

EPR 測定法では、被ばく歴が過去に渡って調べられる特徴を有する。労働者のうち、医療分野の放射線業務従事者では、線量限度を超える方が、一定数存在しうる事が、個人線量測定協議会のデータから推測される。皮膚の等価線量の線量限度は 0.5Gy であり、皮膚に多くの線量を受ける放射線業

<sup>5</sup>

<http://ramap.jmc.or.jp/map/mapdf/pdf/air/20110828/cs137/5640-D.pdf>

務従事者では顔面でも比較的多くの線量を受けうる。このため、過去に一定量を超える放射線被ばくがあったのかどうかを検証しうる事が期待される。

## E. 結論

電子スピン共鳴法を用い、歯を対象に測定する方法を検討し、以下の成果が得られた。

- 1) 日本人の前歯に適応したループ径が小さい共振器(6.0mm)も利用可能となった。
- 2) エナメル質の厚みが信号に与える影響を検証し、0.3mmの厚みの違いが信号に1.3倍程度の影響を与えることを確認した。また、Cs-137線源に比べ医療でのX線では4倍程度応答が大きいことを確認した。
- 3) 院外でも測定を行い、周辺での家電製品の使用や測定場所の電磁波強度がS/Nと関係することを確認した。電波暗室ではS/Nが2倍程度向上した。
- 4) ボランティアを対象とした計測で歯科X線によると考えられる信号が検出され、歯科用X線装置での50回の照射で信号を検出しうることを確認した。
- 5) 紫外線の影響も検証を試みUV-Cの曝露で明瞭な曝露量-信号関係を確認した。
- 6) 動物(牛)の歯でも測定を試みた結果を解析し、今後の課題を整理した。
- 7) 歯科用タービンを使用したエナメル質試料作成法でのX bandでの計測で20mGyの線量増加が検出可能であり、前処理のスループットを改善できる可能性があることを見いだした。

地域でのボランティアを対象とした計測では、コミュニケーションを改善させる効果も確認できた。本装置が弁別できる線量

は1Gy程度であり、福島県内の住民であっても本研究に参加することでの線量評価の質の向上や健康面に関する直接的な利益が全くない。そのことを理解し、さらに、研究での参加で電磁波曝露など、不利益を被るのみであることを強調しても、自らの被災体験から研究に協力したいとする地域の住民の協力を得ることができた。本測定は、一人あたりの測定が10分間程度で、結果をその場で確認できる。コミュニケーションに配慮することで、これまで行政機関や研究者が関係を作ることが課題であった住民(比較的的内部被ばく線量が大きいと考えられる集団である)でも、この研究が受け入れられた。

その一方、測定環境によるノイズの増加や紫外線の影響の除去、測定の感度が向上したことに伴う医療での放射線曝露の影響の除去が課題であることを再確認した。また、放射性ヨウ素のように特定の臓器に集中的にエネルギーが付与される場合には、感度が確保されないことも課題である。

今後、これまでの検討で見いだした課題を解決していくことで、本研究課題の最終目標である災害派遣型EPR線量評価ユニットで最終的に急性被ばく1Gy以上を分別可能な、効果的な線量評価法・トリアージシステムとして社会実装するための成果が得られたと考えられる。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Shimura T, Kobayashi J, Komatsu K, Kunugita N. Severe mitochondrial damage associated with low-dose

- radiation sensitivity in ATM- and NBS1-deficient cells. Cell Cycle in press
- 2) Shimura T, Sasatani M, Kamiya K, Kawai H, Inaba Y, Kunugita N. Mitochondrial reactive oxygen species perturb AKT/cyclin D1 cell cycle signaling via oxidative inactivation of PP2A in low-dose irradiated human fibroblasts. Oncotarget 7 (3):3559-70, 2016
  2. 学会発表
    - 1) Yamaguchi I, Kunugita N, Shimura T, Terada H, Point/Counterpoint discussion: Fukushima risk communication strategy 2- Public health activities in local communities. ISEE 2015.8.30-9.3: Sao Paulo, Brazil.
    - 2) Nakai Y, Miyake M, Yamaguchi I, Hirata H, Kunugita N, Williams B and Swartz HM. Comparison of noise due to environmental in EPR measurement. BioDose 2015. October 4-8, 2015 Hanover, NH, USA
    - 3) Miyake M, Nakai Y, Yamaguchi I, Hirata H, Kunugita N, Williams B and Swartz HM. In-vivo radiation dosimetry using portable L band EPR -On-site measurement from volunteers in FUKUSHIMA Prefecture, Japan - BioDose 2015. October 4-8, 2015 Hanover, NH USA
    - 4) Yamaguchi I, Sato H, Kawamura H, Hamano T, Suda M, Yoshii H, Miyake M, Nakai Y, Hirata H, Kunugita H. L-band EPR tooth dosimetry for neutron and heavy ion. BioDose 2015. October 4-8, 2015 Hanover, NH, USA
    - 5) Shimura T, Kobayashi J, Komatsu K, Kunugita N. DNA damage signaling guards against perturbation of cyclin D1 expression by low-dose long-term fractionated radiation. 15th International congress of radiation research. May 25-29, 2015 Kyoto, Japan
    - 6) 山口一郎, 佐藤斉, 川村拓, 濱野毅, 須田充, 吉井裕, 三宅実, 中井康博, 平田拓, 樺田尚樹. 歯を用いた L-band EPR による線量推計法の開発. 第 48 回 日本保健物理学会研究発表会; 2015 年 6 月; 東京. 日本保健物理学会研究発表会 要旨集. p.111
    - 7) 山口一郎. 医療機関の状況について [特別セッション] RI の安全とセキュリティに関する情報共有 - これから求められる RI のセキュリティ対策について -. 第 52 回アイソトープ・放射線研究発表会; 2015 年 7 月; 第 52 回アイソトープ・放射線研究発表会要旨集.
    - 8) 山口一郎, 佐藤斉, 川村拓, 濱野毅, 須田充, 吉井裕, 三宅実, 中井康博, 平田拓, 樺田尚樹. 歯を用いた L-band EPR による線量推計法の基礎的な検討. 第 14 回日本放射線安全管理学会; 2015 年 12 月; 茨城. 日本放射線安全管理学会要旨集. p.67
    - 9) 三宅実, 中井康博, 山口一郎, 岩崎昭憲, 中井史, 小川尊明, 大林由美子, 樺田尚樹. ポータブル型生体 EPR

(Electron Paramagnetic Resonance: 電子常磁性体共鳴法)を用いた放射線被ばく線量測定—福島在住のボランティアからの計測—、第70回 NPO 法人日本口腔科学会学術集会；2016年4月16-17日、福岡（発表予定）

- 10) 樺田 尚樹、山口 一郎、志村 勉、三宅 実、中村 麻子、盛武 敬. 緊急被ばく医療が必要とされるような事故発生時におけるトリアージのための線量評価手法の検討. 第89回日本産業衛生学会；2016年5月24-27日、福島（発表予定）

### 3.その他

- 1) 山口一郎. 原子力災害後のリスク・コミュニケーション活動・不信の連鎖を解くために何が出来るか?-. 筑波放射線安全交流会；2015年7月；茨城.

### H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

#### 1. 特許取得

なし

#### 2. 実用新案登録

なし

#### 3.その他

なし

## 歯を使った電子スピン共鳴法による線量測定に関するよくある質問集

### 1. 「電子スピン共鳴法を用いた歯の線量測定」とは何ですか？

- **線量測定**とは、受けた放射線の量を測定する方法です。
- 放射線により何らかの健康影響があらわれるかどうかや、その可能性やどのような健康影響がありえるかは、受けた線量の量によります。
- 放射線治療は、がん細胞に対して意図的に、生物学的な効果を「害」として用います。放射線治療医は、がんを治療するためにどれだけの放射線を照射すればよいのか、また、放射線照射が正常細胞にもたらす問題を最小限にする一方で、がんを治療するために腫瘍にどのように集中的に線量を与えるのがよいかを研究しています。がんの放射線治療では、患者にどの程度の線量を与えられようとしているのかは正確に知られていないので、照射後にその線量を測定することは通常必要ありません。
- 私たちは、人々が高いレベルの放射線を意図せず受けたかもしれず、どの程度の線量を受けたかわからないような状況があった場合に、それに対処する方法を見出すことに興味があります。このように意図しない放射線への曝露は、最近日本であった原子力発電所の事故や爆弾により放射性物質がまき散らされるようなテロ攻撃で起こる可能性があります。このような状況で受ける線量を知るのは難しく、適切な治療を受けないと組織反応によるダメージを受けるかもしれません。組織反応とは比較的高い線量を受けたときに、細胞の分裂能力が失われたことによる影響であり、放射線による発がんとは異なるものです。
- 私たちは、このような状況で線量を評価するための早くて手軽な方法を開発したいと考えています。  
この方法を使うことで、意図しない放射線照射を受けた被災者のうち治療が有用と考えられる方が誰であるかや、治療が必要なのは誰かを医師が決定することができるようになることを望んでいます。
- **歯**のエナメル質は、放射線があると自然に反応します。この反応そのものは、ヒトには有害ではありませんし、歯そのものに対しても有害ではありません。この自然な反応は、照射後にほとんど「直ちに」起こります。この自然な反応は、エナメル質の結晶構造を変化させ、結晶に新しい構造を作ります(安定なフリーラジカルと呼ばれます)。測定はすぐにでも可能ですが、必要であれば、放射線を受け、長い時間がたった後でも行うことができます。
- **EPR/ESR (常磁性体電子スピン共鳴)**は、歯の安定なフリーラジカルの量を計測します。これらの安定なフリーラジカルの量は、歯がこれまで受けた線量の総量を示します。
- これまで **EPR/ESR** という用語を聞いたことがないかもしれません。EPR/ESR は、臨床的な研究で用いられます。手法としては、医療で広く使われている **MRI (核磁気共鳴)** と似ています。

これまでのことをまとめると：

• EPR は、歯（のみならず、重要なこととして全身）が受けた線量を推計することができます。この方法は、「EPR を用いた歯の線量推計」と呼ばれています。この方法は、医師が、ある個人が受けた線量がどの程度であるか確信が持てない場合に、線量情報を知らせることで、その個人の治療法として何が最も適切であるかを判断することを手助けします。

## 2. でも、どうして私の歯を測るのですか？私はこれまで、意図せずに大量の放射線を受けたことはありません！

• 私たちは、「正常な歯」を用いて、開発しているシステムをテストする必要があります。このため、全ての種類の正常な歯について、信号がどう見えるかを理解する必要があります。歯には、正常な「バックグランド」信号があるので、そのことを理解した上で、バックグランドの信号を差し引いて、放射線による影響のみに集中する必要があります。これらの測定は、ボランティアの正常な（放射線に照射されていない）歯を用いる必要があります。

• 私たちは、また、「既知の高い線量を受けた歯」を用いてシステムをテストする必要があります。この場合、用いる歯は、高い線量を受けたものががんの治療のために放射線を照射された標準として用いられます。

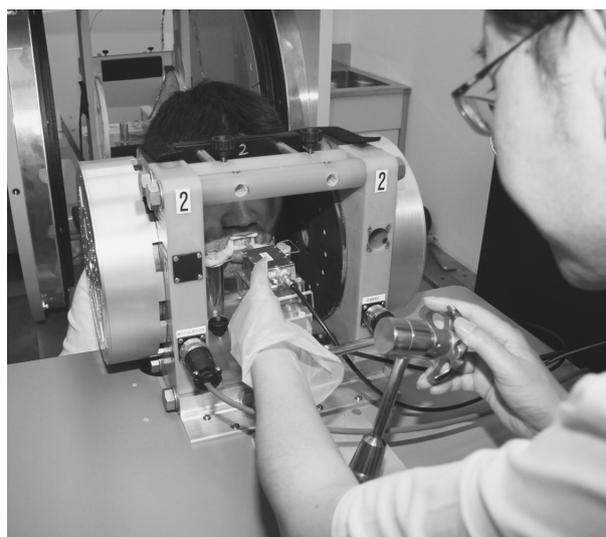
これらの計測は、一般的には、頭頸部のがんや全身照射（たいていリンパ腫や白血病の治療の必要があって照射されます）を受けたボランティアから提供された歯を用います。これらのがんの患者は、私たちの測定がどれだけ正確かを知ることには役立ちます。なぜなら、放射線治療で歯がどの程度の線量を受けているかがわかっているからです。

## 3. EPR 装置はどのようなものですか？

被験者は、大きな永久磁石の間の隙間に座っていただきます。磁石の強さは、冷蔵庫にメモを貼り付けるのに使うものと同様です（より詳しくは FAQ #7 をお読み下さい）。椅子は高さの調整が可能で、計測者がその人に合わせて調整いたします。顎を、計測装置の上にのせていただきます。額は、クッションが付いた棒に寄りかかっています。この姿勢は眼科の検査と同じです。

彼の口は開いていますが、バイトブロックで保持されています。このプレートは、上の唇をやさしく支えているので、彼の上側の歯を測ることができます（FAQ 5 をご覧下さい）。

後頭部には、マジックテープが付けられ



テーブル上の電磁石の間に頭を固定して上の前歯にアンテナを固定します。

ており、磁石に対する位置を変えずに検査中、彼の頭をやさしく保持しています。

もし窮屈だとお感じの場合は、マジックテープは簡単に剥がすことができますから、頭を後ろに戻して、椅子を動かすことができます。測定中は動かないことが大切です。被験者が、できるだけ快適であり、体が保持されるようにします。計測者は、上の前側の歯に小さいループを当てて測定します。

それぞれの計測は、約 60 秒間かかります。全部で 3 回の計測を繰り返します。磁石のところに座る時間は全部で 10 分間程度になるでしょう。

#### 4. 測定している間はどのような感じがしますか？

- 測定中も装置は静かですが、実際に測定している時は、装置の冷却ファンの音が聞こえるでしょう
- 測定中は眼を開けていて構いません。操作者や検出器を見られるでしょう。
- 測定の前や後に操作者に話しかけることができますが、測定中は話しかけることをお控え下さい。体の部分が動くことは、測定の妨げになります。
- 匂いはしません。
- 測定中は何も変わったことを感じません。

## 5. 測定中に何が起っていますか？



### 測定中の被験者

検出器ループをよく見せ、口角鉤がどのようにやさしく上唇を保持しているかを示すために、普段私たちが使っているプラスチックの袋は示していません。

被験者はブロック（絵の下方にある薄い緑の部分）を軽く噛んでいます。二つの濃い緑のプラスチックの口角鉤（私たちはこれをアンテナと呼んでいます）は、この図では白い「アンテナ」として示されています。

バイトブロックを使う前に、私たちはそれをプラスチックの袋でカバーします。この袋とバイトブロックを被験者毎に交換します。

### ディスプレイの「バイトブロック」



1. 磁石の間にあなたの頭を入れる前に、操作者は頬と唇の間に綿球を入れて、唾液を吸い取れるようにします。
2. 操作者は、二つのプラスチックの口角鉤を使って、あなたの上唇を上歯から遠ざけて保持します。
3. そして操作者は測定するために、綿棒を使って歯の前面を乾燥させます。
4. 信号を検出するループを前歯の表面に密着させます。
5. ループに押される感じがするかもしれませんが、不快に思う程度ではありません。
6. その後、オペレータは、少し時間をかけて装置をチューニングします。このため、検出器（あなたはそれを見ることができます）の反対側の一番端にある小さいノブを回すことがあります。そして、コンピュータの操作者とやりとりするでしょう。
7. あなたは、測定の間中、完全に静止していることが求められるでしょう。それぞれの測定は 60 秒間かかります。
8. 測定がいつ開始され、いつまで動いてはいけないかは、あなたに伝えられます。
9. とても小さな音を聞くでしょう。この音は、測定が進んでいることを示します。
10. 測定が半分まで進んだら、そのことが告げられるでしょう（それは測定開始後 40 秒後です）。
11. 測定が終わったら、そのことが告げられるでしょう（それは測定開始後 80 秒後です）。力を抜いて構いませんが、その姿勢のまま、頭を磁石の間で、口を開けたままでいて下さい。
12. 測定中は、操作者から説明があっても反応しないでください。なぜなら、体を動かしたり話したりすることは、測定の質を損なわせます。
13. あなたの頭が磁石の間にある間に 5 回の測定が同じ歯に対して行われます。
14. それぞれの測定の前に、歯に密着させた検出器のループの位置が再調され、操作者は、唾液の状態を確認し、必要があれば新しい綿球を加えます。
15. それぞれの測定セットの開始時、測定が始まるということが告げられますので、測定の間だけ静止するように試みることができます。
16. 磁石の中にいる時間は、全部でだいたい 10 から 15 分間程度です。

## 6. 測定が終わった後はどうなりますか？

- 測定が終わった後に、検出器のループが歯から外され、マジックテープが外されます。
- 噛んでいたものを離すように言われ、頭がゆっくりと後方に引っ張られ、マグネットの外に出ることになるでしょう。
- 操作者が綿球をあなたの口から取り出し、それを捨てるでしょう。
- 測定場所から離れてもよいと告げられるでしょう。
- これが最初の測定であった場合、あなたの経験に関する質問紙に感想を記入するように求められるでしょう。このことは、あなたのような方のフィードバックをもとにして、システムを改良し、できるだけ実験を喜ばしく快適なものとするためにとても有用です。また、あなたは、何でもよいので私たちに気づいたことをお話しされることをいつでも歓迎します。このことは本当に役立つのです。

## 7. EPR の磁石の大きさはどの程度ですか？

- 「テスラ」は磁場の大きさを測るときに使われる単位です。
- EPR 線量装置で使われる磁場の大きさは 0.04 テスラです。
- 人々が冷蔵庫のドアに貼り付けるマグネットは、0.01 テスラから 0.05 テスラですから、それと同じ程度です。
- それに引き替え、患者の検査で使われる新しい MRI では、3 テスラの磁場が使われることがあります。この磁場の強さは、私たちの磁石に比べると 75 倍の強さを持ちます。言い換えると、EPR で使う磁石の強さは MRI の 4% 程度となります。

## 8. 測定を受ける人が好まないようなことが起きたことがありますか？

測定が終わった後、私たちは、私たちの理解をよくするために、検査を受けた人にもどのように感じたかをお話しするようお願いしています。ほとんど全員が、検査の流れに満足し、何も問題はなかったと報告しています。

しかしながら、幾人かは、好ましくないことが起きたと話して下さっています。

- バイトブロックを堅く噛みすぎるか緊張を感じ、磁石の中での検査の最後に**筋肉痛**を訴えられました。**解決策**：できるだけリラックスしてください。測定と測定の間では、堅く噛むことや体をじっとしている必要はありません。
- **よだれ**で不快になったと述べられた方がおられました。**解決策**：綿球を口腔内に挿入し、その可能性を最小にするように試みます。綿球に唾液が多く含まれるようになった場合には、測定と測定の間、新しい綿球と交換することができますし、ティッシュを使って唾液が口腔内から落ちるのを回収することができます。私たちは、今では（前にある）犬歯を測るようになりましたので、後ろの臼歯を測定することに比べると、よだれの可能性はとても小さくなっています。
- お一人だけですが、磁石の中に閉じ込められる感じが不快であると報告され方がおられました。**解決策**：デザインを変更し、開放的にして、中にいるときでも周囲がよく見えるようにしました。しかし、もしあなたがパニックになったときは、頭をゆっくりと出して下さい。あなたはいつでも測定をやめるように言うことができます。
- 磁石の中がむっとすると報告された方がおられました。**解決策**：ファンを設置し、空気の循環をよくしました。
- バイトブロックやループの**清潔さ**を心配される方がおられました。**解決策**：歯科医療機関で使われるような衛生器具を用いて、私たちは注意深く表面をきれいにして

います。私たちはディスポのプラスチックの口角鉤を用い、操作者はそれぞれのボランティア毎にディスポの手袋を変えています。また、バイトブロックは個人毎に変えています。私たちの手順はあなたの施設が承認した方法を用いています。私たちはあなたのために清潔であることを望んでいます。

## 9. 私の健康へのリスクはありますか？

EPR 測定によるリスクは「最小」です。特に、動物実験やヒトでの研究では有害健康事象は知られていません。それでもなお、説明による同意を求める際に、ペースメーカーや磁性体が組み込まれたものを身につけていないか確認しています。他に循環器で使われる除細動装置、神経刺激装置、人工内耳、埋め込み式の注入装置など、磁性体を含む可能性のある機器は、磁場がとても弱いとは言え、磁場と相互作用を起こす可能性があります。私たちは、あなたがこれらの機器を付けておられるかどうか、もしそうであれば、あなたの主治医が、私たちがあなたを測定することに危惧を持っているかどうかを測定の前に確認します。これらのヒトへのリスクは最小限であると思われませんが、私たちはこれらの方が、磁石に近づきすぎたり、測定のために磁石の間に入ることで磁場に曝されることを避けたいと考えています。また、私たちは、被験者は18歳以上としたいと考えています。そうであれば、私たちの説明資料を容易に理解でき、この研究に参加するために、インフォームドコンセントを正しく与えることができます。

## 10. 磁石の間の中で眼鏡をしてもよいですか？

構いません。磁石の中で眼鏡をしても安全です。もし大きな眼鏡であれば、外していた方が快適です。

## 11. 磁石の間の中で宝石類を身につけていてもよいですか？

構いませんが、あなたはそれを外したいと思われるでしょう。宝石類は金属であっても磁石の中で安全に身につけることができます。もし好めば、それを外すことができます。しかし、宝石は測定に影響を与えませんし、それを装置の中に忘れたとしても、何も起こりません。宝石が引っ張られるとかすかな引っ張り感を感じるでしょうから、何かご心配であれば、私たちはイヤリング、鼻ピアス、ネックレスは外されることを一般にお勧めしています。

## 12. いくつかの歯が治療され、詰め物がされていたり、被せものがあつたり、可撤性架工義歯であっても構いませんか？

構いません。私たちの装置は測定対象の歯のエナメル質を特異的に測定します。このため他の歯がどのようなもの（セラミック、レジン、アマルガム（かつて行われていた治療）、金）で治療されていても問題はありません。被せものがあつたり、可撤性架工義歯があつても構いません。

もし、測定対象である歯（原則として前の上側の二つの歯のどちらかが）が詰め物をしているのであれば、測定の時にお知らせ下さい。さらに、質問紙にそのことを書いて

ておいて下さい。測定であなたの歯がダメージを受けることはありません。しかし、測定対象歯の詰め物は測定に影響を与えますので、得られた結果が奇妙であった場合に、その原因を知りたいと考えています。

### **13. 全てが義歯であるときに、測定できますか？**

いいえできません。義歯はエナメル質を持っていませんので、測定できません。

### **14. インプラントや歯科ベニアをしていても構いませんか？**

構いません。しかしながら、そのことを計測担当者が質問したときに答えるようにして下さい。

### **15. ホワイトニングをしていてもよいですか？**

構いません。しかしながら、そのことを計測担当者が質問したときに答えるようにして下さい。

### **16. 放射線治療を受けていた場合はどうなりますか？**

そうであっても測定させていただければと思います。そのことを「計測担当者」が質問したときに答えるようにして下さい。

頸部以下の部位で放射線治療を受けた場合、私たちはそれを検出することはできません。なぜなら、歯が受ける線量だけを計測しているからです。

しかしながら、頭部（頭部や頸部のがん）や全身照射（白血病やリンパ腫）を受けておられた場合には、それがたとえ何年も前のことだとしても、測定で放射線を照射されたことを検出するでしょう。

### **17. 測定した後で線量の結果を教えてくださいませんか？**

はい。

しかし、この測定はバックグランド信号（既存信号）のばらつきを調べるためのものであり、計測値から、直ぐに吸収線量が推定できるわけではありません。研究結果は、ウェブサイトや論文などで公表を予定しています。

### **18. 写真に撮られるのは何故ですか？**

撮影する写真には、あなたの顔を含みませんので誰もあなたであるとは認識できません。

静止画像：私たちはあなたの前の歯のデジタル写真を撮影します。その理由の一つは、リゾネータをうまく設置できたかどうかを判断するためです。もしも結果が予想

外であった場合、何がよくなかったのかの理由を説明するのに役立つかもしれません。あなたの歯のエナメルを見るためです。最後の理由は、測定に適した歯を自動的に選ぶために光をどう使うのがよいか研究しているからです。

ビデオ [もし使われた場合]：私たちは頭部と頸部の位置や、あなたが快適に座っているかどうかを記録します。私たちの装置の快適性を改善し、測定される方にとって楽で手早い方法で行えるようにしたいと考えています。

## **19. 妊娠していたり、妊娠しているかもしれない場合は、どうですか？**

私たちの装置は妊婦には安全です。

## **20. 他に何かできることはありますか？**

もしあなたが、より快適に測るための工夫でお考えのことがあったり、単に測定中に何か気になったことがあった場合でも、どうぞ、それをお知らせ下さい。あなたの経験と助言は、それを教えていただくことに大きな価値があります。私たちは、このような情報を追加するために質問紙を配布していますが、スタッフの誰でもよいのでどうぞお気軽にお知らせ下さい。あなたのアイデアはいつでも歓迎します。

私どもは、あなたのご協力を心から歓迎しますし、私たちの研究を助けようとして下さることをありがたく思っています！

# 研究同意のための説明

## トリアージ研究のための歯を使った EPR(Electron Paramagnetic Resonance 電子常磁性体共鳴法あるいは ESR Electron Paramagnetic Resonance 電子スピン共鳴法)測定

この研究に協力をお願いいたしました。この研究に参加するか否かはあなたの意志によります。

あなたが、この研究に参加することによって、テロ、事故、核戦争などにより起こりうる予期せぬ放射線量のトリアージ測定に関して、新しい測定方法の開発するための基礎データが得られます。

以下に Q&A 形式で説明を記載しています。ご不明な点、わかりにくい点などございましたら質問してください。

### 1. この研究の目的は何ですか？

放射線により、歯のエナメル質に、経時的に安定なラジカルが形成されることは知られており、この原理を使って過去の放射線被ばくの線量の評価（広島・長崎での原爆被災者やチェルノブイリ原発事故など）がなされてきました。これまで、この方法は、抜いた歯や脱落した歯を使って行われてきました。我々は、口の中にある歯からそのまま測定できる装置の開発を米国の研究室と共同で行っています。正確な評価・計測にはベースライン（既存信号）EPR信号の評価が重要で、被ばくの可能性有無を問わず広く、線量評価法としての生体 EPR 線量測定法にかかる基礎データ（ベースライン EPR 信号）の収集を計画しています。ベースラインの信号強度の状態を計測しておくことは、今後万が一の被曝事故や蓄積性の被曝が発生した場合の定量評価に役立つと考えられます。得られたデータは、米国ダートマス大学放射線医学講座 Dart-Dose CMCR と共同で解析を行い、定量性および感度に関する評価を行います。

### 2. 既存信号（ベースライン信号）とは一体なんですか。

放射線の曝露の有無にかかわらず、自然界からの放射線や、医療被曝（歯医者さんでの X 線検査、定期健診での胸部写真、CT 検査など）で、歯のエナメル質に、ある程度のラジカルが形成され、それが EPR 信号として観察されます。これは、個人のこれまでの医療被曝歴、また地域、年齢、歯の部位により、ばらつきがあります。その信号のことを既存 EPR 信号ベースラインといいます。

### 3. この研究に参加することによって得られる利益はありますか？

あなたは、この研究に参加することによって、直接利益は得られません。これまでに受けた被曝線量を直ちに測定できるわけではありません。

あなたがこの研究に参加することによって、将来に放射線被曝を伴うような事故など際に、診断、治療方針の決定に有効と考えられる測定方法の技術の開発に寄与する

でしょう。今回の基礎データが十分蓄積されると放射線照射を受けていない歯のベースライン（既存信号）のばらつきを評価することができ、そのことによって測定の精度が増します。

#### 4. 実際に、どのように計測するのですか？

この研究の測定では、永久磁石で作られた弱い磁場を使います。椅子に座り、磁石の間に頭を固定し、ます。プラスチックの板（バイトブロック）を軽く咬むことによって、上唇を上歯から遠ざけて保持します。測定する装置は上の歯に密着させます。測定中は、人によっては、唾が口の中に溜まりますが、不快ではないと思います。測定中は動かないようにして下さい。測定時間は1歯につき15分程度かかります。測定回数は1歯につき、3回から5回行い、1回につき80秒程度です。測定中は静止するようにお願いします。

測定中に、ビデオで口もとを録画するかもしれません。私たちは頭部と頸部の位置や、あなたが快適に座っているかどうかを記録します。また計測用のアンテナ（共振器のループ）がうまく設置できたかどうかを判断するために、写真を撮らせて頂きます。

測定の最後に、今回の測定であなたが感じたことに関して質問票に記載していただきます。これは、今後の当技術の向上のための資料といたします。

測定が終わって、数ヵ月後、あるいは何年後かに測定結果が同程度であるか調べるために追加の測定を受けていただくことをお願いすることがあります。当然、ご協力頂けるか否かは自由意志です。

#### 5. この計測による何かリスクはありますか？

電子スピンを使った測定では、磁場と電磁波を使っています。磁場は400ガウスの大きさです。この強さは、冷蔵庫に貼るマグネット程度です。計測中に磁場にさらされることによる健康リスクは無視できる程度であると考えています。ただ、ペースメーカーや人工内耳、何らかの埋め込みの医療器具を使われている方は、弱い磁界でもリスクが報告されていますので、この研究には参加できません。電磁波は、皮膚に熱を持つような強い電磁波ではありません。携帯電話やIHクッキングヒーター、送電線で使われる周波数とほとんど同じものが使われ、出力は更に小さいものです。人がその電磁波を感じることはありません。また、その健康影響は無視できる程度と考えています。

あなたがこの研究に参加するかどうか、または研究への参加の取りやめることに関しても、何の不利益もありません。

#### 6. あなたが知っておくべき重要事項およびこの研究への参加取りやめについて

あなたはこの研究への参加をいつでも取りやめることができます。途中であってもかまいません。理由は問いません。

7. どの程度プライバシーは守られますか？ データ公表および保管はどうなるのですか？

この研究に含まれるデータとして、電子スピンを用いた測定結果、年齢、性別、名前、住所、この研究が行われた時の歯の状態の情報は集められますが、個人を特定できる形でデータを公表することはありません。

もし、あなたが体に放射線治療を現在受けている、過去に受けたことがあるならば、私たちはどの程度放射線量が照射されているか、また診断名について教えて頂くかもしれません。その情報は、測定がなされた時の個人が特定されない報告書の形で発表されます。

計測されたデータに関して

- ① EPR 測定結果と被験者には関連付けられた不規則に振り分けられた参加者の番号以外には個人情報はありません。(連結可能匿名化)
- ② 計測データは、鍵がかかる部屋に保管され、PCもパスワードで管理されています。第三者がアクセスできませんし、個人情報は暗号化されます。
- ③ この研究によって得られた情報は保持されますが、関係機関の規則によって開示されることがあります

私たちは、この研究に参加した被験者の名前を守るために、最大限の注意を払い管理をします。

匿名化等により十分な配慮を行いますが、あなたが測定結果を研究資料として利用しその結果を公表することを許可していただければ、この研究に参加することはできません。

8. この研究に関する質問に対してだれに連絡すればいいですか？

研究責任者は、香川大学医学部歯科口腔外科学教授 三宅 実 ( ) と国立保健医療科学院生活環境研究部上席主任研究官 山口一郎(電話：048-458-6259、電子メール drhyama@niph. go. jp)です。ご連絡頂ければお答えいたします。

9. この研究でお金はかかるのですか？

費用の負担はありません。協力いただいた方には2,000円分の図書カードを謝礼としてお渡しします。

10. 万が一この研究に参加して病気になったり、けがをしたりしたらどうなりますか？

この研究に関連して、万が一けがなどが発生した場合、研究保険に加入していますので、そこから医療費が支払われます。

**測定前質問:**  
**電子常磁性体共鳴法による歯の線量測定法**  
**対照群ボランティア評価**

測定対象 ID (イニシャル) \_\_\_\_\_ 研究対象 ID (番号)  
日付 \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日  
EPR 計測者 \_\_\_\_\_

**PART 1: 開始時と継続的適正性の評価**

同意書の記載の前に、この研究に対する適格性を評価するいくつかの質問に答えて頂きます。

**適格性に関する一般的質問**

1. 年齢は 18 歳以上ですか? .....  はい  いいえ
2. 少なくとも一本健全な上の前歯がありますか? .....  はい  いいえ
3. 矯正治療の装置など外すことができないものが前歯に装着されていますか?  
.....  はい  いいえ

- 1,2 あるいは 3 が “いいえ” の場合、この計測をお願いできません。ご協力ありがとうございました。
- 1,2,3 とも “はい” の場合は下記の質問にお答え下さい。

**計測の体位等の適正について**

3. 5 分から 10 分間程度じっと椅子に座っていることが可能ですか?  はい  いいえ
4. 5 分から 10 分間程度口を開けていることができますか?  はい  いいえ
5. 閉所恐怖症ですか?  はい  いいえ

- もし、3,4,5 の質問で一つでも “はい” がある場合は、計測ができません。これで終了いたします。ご協力ありがとうございました。
- すべて “いいえ” の場合、次にお進み下さい。

**人工移植機器 (機材) 5 ガウスの静磁界に入らない規制 (ICNIRP 基準)**

電子常磁性体共鳴法の為害性はほとんどありません。特に健康を害する影響はほとんどないことは、動物実験や人体での研究で証明されています。しかしながら、ごく弱い磁界であっても影響を及ぼすかもしれない心臓ペースメーカーやそれ以外の人工移植体を使用されているかどうかについて確認をさせていただきます。ほとんどの人工移植体は問題はないのですが、一部影響があるものが存在します。つきましては、ごく弱い磁界であっても影響するかもしれない移植体についてお答え下さい。

5. 心臓ペースメーカーを使用していますか? .....  はい  いいえ

- もし質問 5 が “はい” なら計測を行うことができません。ご協力ありがとうございました。
- “いいえ” の場合、次にお進み下さい。

6. あまり適用が多くない医用移植体についてお答え下さい。以下の医用機材が使われていますか?

- a) 植え込み型除細動器 .....  はい  いいえ

- b) 移植型神経刺激装置----- はい いいえ  
c) 人工内耳 ----- はい いいえ  
d) 移植型輸液注入装置 ----- はい いいえ

7. あなたは今までに医師から、磁性体を含んだ移植手術を受けているあるいは磁場から離れないといけないと言われたことがありますか？ はい いいえ

- もし, 質問 6,7 のいずれかが”はい”であれば、計測はできません。ご協力ありがとうございます。
- いいえであれば、ボランティアの方に適格があることを告げて、インフォームドコンセント(十分な説明と同意) また質問に答えて下さい。

確認: 計測に協力頂くボランティアの方は全ての適格に合致していますか？

はい  いいえ

## PART 2: 十分な説明と同意

PART 2 説明同意書が必要な場合、全て記載して下さい

質問に答え、情報を伝えるために、“よくある質問とその答え”を参照して下さい。

確認: 計測参加者は署名をした同意書を有していますか?  はい  いいえ

## PART 3: 基本的な個人の情報と測定予定歯の確定

PART 3 計測前に必ず確認しておくこと。

実際の計測前に、我々はいくつかのあなたに関する簡単な質問を用意しています。特に歯についてこの質問は、どの歯をどのように測定するかを決定するために重要な資料となります。ただ答えたくない質問には答える必要はありません:

一番目、簡単な質問です。

8. 生年月日は? 西暦 年 月 日

9. もし明らかでない場合は尋ねて下さい。: 男性ですか女性ですか?

男性  女性

10. 全体的に、あなたの現在の健康状態はどれくらいと思われますか?

極めて良好  とてもよい  よい  普通  悪い

11. 今まで放射線治療を受けられたことがありますか? 例えば、がん治療に対するようなことで。

はい  いいえ

もし“はい”の場合、それは頭頸部がんの治療でしょうか?  はい  いいえ  
全身放射線照射を受けたことがありますか? たとえば、白血病やリンパ腫に対して。

はい  いいえ

12.a. 今まで、1週間に1箱あるいはそれ以上煙草を吸っていたことがありますか?

-----  はい  いいえ

b. 今まで普通の煙草以外の、噛みたばこや葉巻などを吸っていたことがありますか。--  はい  いいえ

もし a または b で “はい” の場合、最後に吸ったのはどれくらい前でしょうか?

6 か月前以内  6 か月から 2 年前  2 年-10 年前  10 年以上前

これからの質問は、どちらの上の前歯から計測できるのか決定するために行います。これからあなたの右の上の前歯について伺います。その後左の上の前歯（左上中切歯）について伺います。

**注意:** ボランティアの右上中切歯を歯 8、左上中切歯を歯 9 とします。

13. 上顎中切歯に関して:

	右上 ボランティア歯 8			左上 ボランティア歯 9		
	はい	いいえ	わかりません	はい	いいえ	わかりません
右あるいは左上の歯を喪失していますか？						
右あるいは左上の前歯に被せものあるいはベニヤ（貼り付け）の修復はされていますか？たとえば審美的修復の目的で。						
右あるいは左上の前歯が折れたり欠けたりしたことがありますか？	修復は？			修復は？		
右あるいは左上の前歯に詰め物などの修復をされたことがありますか？						

測定前歯

:

右上前歯 8

左上前歯 9

返答を得られるまでは下記の規則が適応されます。

- 規則 1: 片側の歯がなければ、対側の歯から測定する。
- 規則 2: 唇側に転位していてループの適合がよい方から計測する。
- 規則 3: 左右位置的に違いがなければ左上の前歯を測定する。
- 規則 4: 歯 9 を測定する。

14. 今までに歯のホワイトニングをしたことがありますか？ ---- <sup>1</sup>□はい <sup>2</sup>□いいえ  
もし“はい”の場合: ホワイトニングは最近ではいつしましたか？

- <sup>1</sup>□ 一ヶ月以内
- <sup>2</sup>□ 一ヶ月から 6 か月以内
- <sup>3</sup>□ 6 か月以上一年以内
- <sup>4</sup>□ 1 年以上前 (具体的日時 \_\_\_\_\_)

歯からの測定に向かって進むことと、EPR 測定後の最終段階についての再確認

ボランティアの方にお礼を延べ、EPR 測定後に最終質問があることを再度伝えておく。

質問にお答え頂きありがとうございます。測定後にいくつか質問がありますのでまた協力のほどお願いいたします。その質問は、これからのこの技術の向上に大いに役立ちます。どうもこの研究にご協力頂き感謝申し上げます。

では具体的計測に進みます。:

では、線量測定担当者に会う時間です。

彼らは、歯での **EPR** の測定に関して専門家で、またトレーニングをしっかりと受けた歯科医です。

まず最初に彼らがあなたの歯を簡単に診ます。そしてどの歯から測定するのかを決定いたします。しかしながら、もしあなたが同意されれば、我々は歯の正常なばらつきについて更に知る必要があり

ます。例えば男性と女性の違いあるいは若年者と老人などです。それを行うために、測定者は以下のいくつかのことを行います。

1. 測定者は、あなたの歯を診て、**EPR** による計測を行う歯に関して歯式を記録します。それらの歯を実際に全て測定することはありません。
2. それから計測者は本日測定する歯を選択いたします。それからエナメル質の状態、大きさ、色を計測し記録します。また口の写真を撮影します。これらは、これからの我々の **EPR** 計測技術の向上と改良に役立ちます。

測定前に以上のことは 3-4 分以内に終了いたします。ご協力頂けますか？

#### **EPR 計測後に行う最後の項目：**

- ・測定後のアンケート
- ・今後の連絡方法

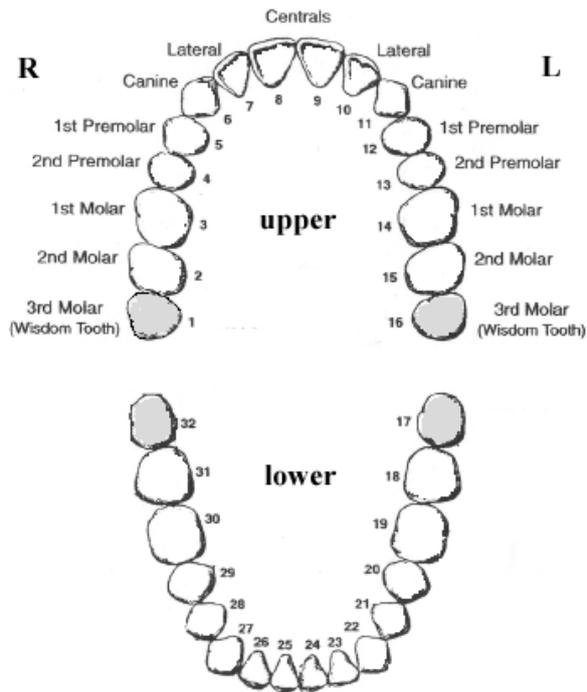
臨床コーディネーターに確認：今後、同じ人からの追加の **EPR** 計測も非常に大切であることを説明して下さい。歯の自体の計測や質問票をして頂くことはありません。**EPR** 線量計での計測だけを行わせて下さい。今後我々が、電話か **e-mail** でご連絡を差し上げますのでよろしければどうかご協力ください。ご連絡方法に関して、ご都合のよい方法をお教え下さい。

**PART 3: 歯科専門家による評価**

STEP 1. 評価は上顎の前歯だけです。

注意事項:

- ・上下の4本の前歯だけです。もし前歯がEPR測定に適さない場合はX印を下記の歯式に記載下さい。例：歯の喪失、歯冠補てつ、破損、充填、う歯などによる場合。
- ・もし4本とも適正である場合、ここに印を付けて下さい。 □ 4歯とも良好



STEP 2: 計測する歯を選択し、計測を行います。写真も撮影します。

A. 規則 RULE: 可能なら歯9 (左上前歯)

どちらの歯を測りますか:  歯 9

歯 8

B. EPR 計測をする歯の診査

歯8または歯9i

1. 選択した歯の写真撮影

[注 NOTE:エクセルシートに記載します。

2. VITA Toothguide 3D-MASTER®\*を使って歯冠色を診査します。下記に記載して下さい。

a. もし着色が非常に強い場合 (code 5M)、それが外因性か、内因性かあるいは両方または不明か記載して下さい。

もし内因性と考えられる場合は、ボランティアに過去にフッ素添加治療を受けたかあるいはテトラサイクリンを使用されたか確認して下さい。

3. 歯の摩耗の状況と大きさをこのコードを使って評価して下さい。 (略)

## リン酸化ヒストン H2AX ( $\gamma$ -H2AX)を用いた 生体内 DNA 損傷レベルの測定による線量評価

研究分担者 中村 麻子 茨城大学理学部 准教授

研究分担者 盛武 敬 産業医科大学産業生態科学研究所放射線健康医学 准教授

研究協力者 五十嵐友紀 産業医科大学産業生態科学研究所職業性中毒学 講師

研究協力者 孫略 産業医科大学産業生態科学研究所放射線健康医学 産業医学基礎研究医員

### 研究要旨

リン酸化ヒストン H2AX ( $\gamma$ -H2AX)を用いた DNA 損傷モニタリング法は生体内 DNA 損傷を迅速かつ高感度にモニタリングする方法として期待されている。本年度は、有効な放射線線量評価を現場で行うシステム作りのための  $\gamma$ -H2AX アッセイデバイスの予備的な開発および、計画的被ばく者に対する生体内 DNA 損傷レベルを  $\gamma$ -H2AX アッセイによってモニタリングするための条件検討を行った。

### A.研究目的

放射線被ばくは、福島原発事故に代表されるような予期せぬ放射線被曝などを含め、様々な場面において発生する可能性があり、線量評価による生体影響（発がんリスク）評価の重要性が指摘されている。放射線被ばくの生体影響を評価する方法として、一般的には染色体異常分析が用いられるが、この方法は結果を得るまでに時間がかかること、低線量放射線の影響は検出されにくいこと、あくまでも累積した放射線被ばくの影響しか検出できないことなどの問題を抱えていた。それに対し、これまで申請者を含めた研究チームにより開発されたリン酸化型ヒストン H2AX ( $\gamma$ -H2AX) を用いた DNA 損傷モニタリング法は、生体内 DNA 損傷を迅速にモニタリングする新しい方法として期待されている。しかしその一方で、 $\gamma$ -H2AX アッセイを

含めほとんどの影響評価アッセイは生体サンプルの調製、 $\gamma$ -H2AX に対する免疫染色工程、さらには蛍光顕微鏡による検出など、実験行程の複雑さという背景から実験室ベースで行われることがほとんどであり、事故現場のような『現場』における解析作業は困難な現状である。そこで、迅速な DNA 損傷レベルのモニタリングを可能とするアッセイデバイスの開発を含めた  $\gamma$ -H2AX による線量評価システムの構築により、トリアージ対応可能な迅速な線量評価法の確立を目指す。本年度はアッセイデバイスの予備的な開発を行った。また、被ばく量の明確な計画的被ばく者の生体内 DNA 損傷レベルを  $\gamma$ -H2AX アッセイを用いて測定し、 $\gamma$ -H2AX アッセイによる被ばく線量推計と被ばくのトリアージが可能であるかを検討するための予備的な解析を行った。

## B.研究方法

### 1. $\gamma$ -H2AX アッセイデバイスとしての PDMS チップおよび小型遠心機の検討

迅速な  $\gamma$ -H2AX アッセイデバイスとして、従来の密度勾配遠心法ではなくチップ上に拡散させることでリンパ球分離を行い、さらには同じチップ上で DNA 損傷レベルの解析も行うことのできるデバイスを想定し、Polydimethylsiloxane (PDMS) チップに着目した。学外研究協力者である群馬大学鈴木孝明准教授の有する三次元リソグラフィ技術を用いることで様々な微細構造を PDMS チップに作成することが可能である。本年度は、比較的シンプルな V 字微細構造加工を施した PDMS チップにリンパ芽球細胞が固定可能か検討した。

### 2.計画的被ばく者を対象とした被ばく後生体内 DNA 損傷レベル解析のための予備的な条件検討

本事業の研究分担者である盛武らのグループ（産業医科大学）によって採取された IVR (Interventional radiology) 実施前後の被験者リンパ球における DNA 損傷レベルを  $\gamma$ -H2AX アッセイによって測定するための予備的実験として、まず、産業医科大学におけるリンパ球の固定・分離作業および茨城大学までのサンプル送付条件が適当であるかを検討した。具体的には、産業医科大学で 2Gy の X 線を ex vivo 照射された血液サンプルからリンパ球を分離あるいはそのまま固定処理し、冷凍条件で発送を行った。翌々日に茨城大学に到着したサンプルを用いて  $\gamma$ -H2AX による DNA 損傷レベルの計測を行い、予想される DNA 損傷レベルが検出されることを確認した。

### 3.計画的被ばく者を対象とした被ばく後生体内 DNA 損傷レベル解析

上記研究 2.においてサンプル調製条件および

送付条件に問題がないことを確認したのち、IVR 実施前後の被験者サンプルを茨城大学に送付し、 $\gamma$ -H2AX による DNA 損傷レベルの解析を行った。IVR の条件および対象患者情報については研究分担者盛武グループの報告書を参照。

### 3.倫理面への配慮

ヒト対象試験は研究分担者である盛武グループですでに承認を受けているものである。

## C.研究結果

### 1. $\gamma$ -H2AX アッセイデバイスとしての PDMS チップおよび小型遠心機の検討

遠心力を用いて PDMS チップ上にリンパ芽球細胞を拡散・固定するために、小型卓上遠心機に独自の治具を作成した（図 1）。今回用いた遠心機では遠心力が若干強く、リンパ芽球の固定量は不十分であった。検討した V 字型微細構造にリンパ芽球がトラップ可能であることが確認されたが（図 2）、一部のリンパ芽球細胞はトラップされることなくすり抜けていた。さらに、PDMS チップの十分な表面改質（親水処理）が必要であることを確認した。

### 2.計画的被ばく者を対象とした被ばく後生体内 DNA 損傷レベル解析のための予備的な条件検討

産業医科大学から送付されたリンパ球細胞を用いて  $\gamma$ -H2AX に対する免疫染色を行った結果、放射線照射サンプルにおいて明確な  $\gamma$ -H2AX フォーカスが検出された（図 3）。 $\gamma$ -H2AX フォーカスとして検出される DNA 二重鎖切断量は、放射線量に相関していた。また、全血液サンプルを直接固定したサンプルでも、同様に  $\gamma$ -H2AX に対する免疫染色を行った結果、これまでの報告と同様に、リンパ球細胞にのみ放射線誘発の DNA 損傷が  $\gamma$ -H2AX フォーカスとして明確に検

出された (図4)。

### 3.計画的被ばく者を対象とした被ばく後生体内 DNA 損傷レベル解析

産業医科大学から送付された IVR 実施患者由来リンパ球細胞を用いて  $\gamma$ -H2AX に対する免疫染色を行った。試験実施期間が2016年1月~2016年2月であったため、詳細な解析は来年度以降となる見込みである。

#### D.考察

シンプルな微細構造である V 字構造 PDMS チップは今後構造間の大きさの改善やより微細な構造を作成するなどし、より効率的にリンパ球を分離・固定するための条件を検討する必要があるだろう。また、表面改質が不十分であると細胞の拡散効率が非常に低下することから、オゾンクリーナーなどを用いた十分な表面改質も必要である。今年度は小型卓上遠心機として最低 6000rpm の遠心力のものを用いたが、細胞の拡散が必要以上に起こっていたため、より低速な遠心機の改良が必要である。

計画的被ばく者を対象とした臨床研究の予備的研究では、照射した線量相当の DNA 損傷が  $\gamma$ -H2AX アッセイによって検出されたことから、今年度検討した細胞準備の条件および送付条件は問題ないことが明らかとなった。現在までにサンプリングされた IVR 実施患者における生体内 DNA 損傷レベルの解析については、今後継続して行っていくことで、被ばく線量と  $\gamma$ -H2AX レベルの相関性を明確にし、トリアージのための定量バイオマーカーとしての評価を行っていく。

#### E.結論

$\gamma$ -H2AX アッセイデバイスとしての PDMS チップの開発、細胞の拡散・固定を行うための小

型遠心機の加工等を行った。今年度は培養細胞を用いた予備的な実験であったことから、今後さらなる微細構造の改良、遠心スピードの調整などを行い、血液から迅速にリンパ球を分離し解析できるデバイスの開発を目指す必要がある。来年度も継続してデバイスの開発を行う予定である。また、計画的被ばく後の生体内 DNA 損傷レベルを  $\gamma$ -H2AX アッセイによってモニタリングすることが可能であることが示された。来年度は IVR による放射線曝露に基づく  $\gamma$ -H2AX の定量だけでなく EPR (Electron paramagnetic resonance) を用いた線量評価データとの相関性も検討していく予定である。

#### F.健康危険情報

総括研究報告書にまとめて記入

#### G.研究発表

##### 1.論文発表

なし

##### 2.学会発表

なし

#### H.知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

##### 1.特許出願

本研究で開発される  $\gamma$ -H2AX アッセイデバイスおよびシステムについては特許出願予定である。

##### 2.実用新案登録

なし

##### 3.その他

学外研究協力者

鈴木 孝明 群馬大学 准教授

PDMSチップ(試作品)

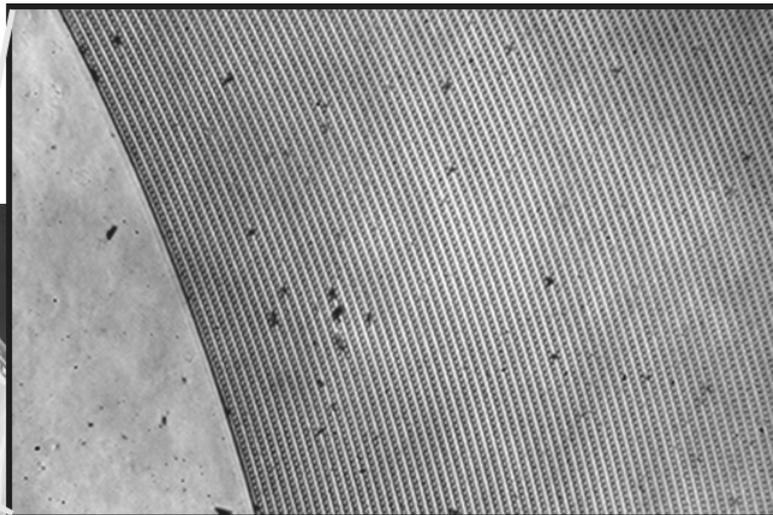
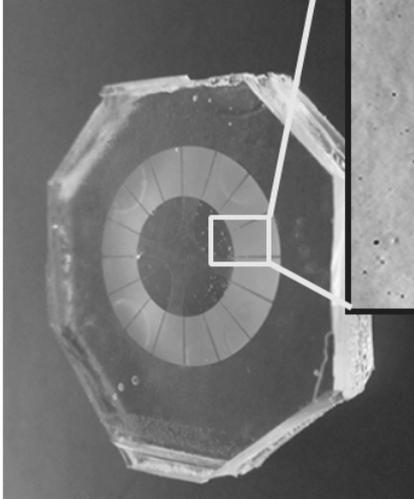


図1 DNA損傷モニタリングデバイスとしてのPDMSチップ(試作品)とチップによるリンパ球分離・固定を旨指して改良した小型遠心分離機

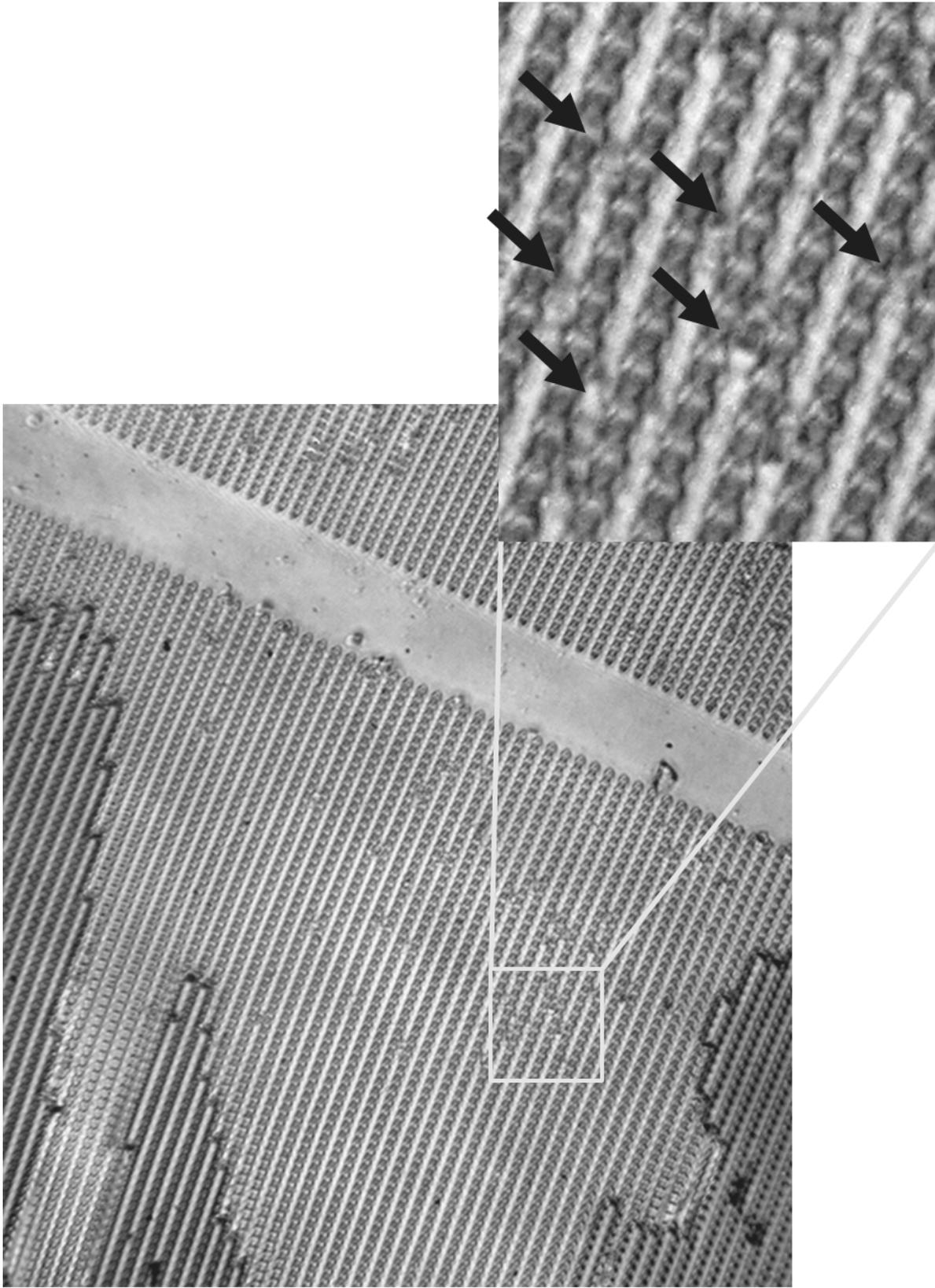


図2 PDMSチップ(試作品)上に拡散したリンパ芽球細胞  
メッシュ状の微細構造内にリンパ芽球細胞がトラップされている(矢印)

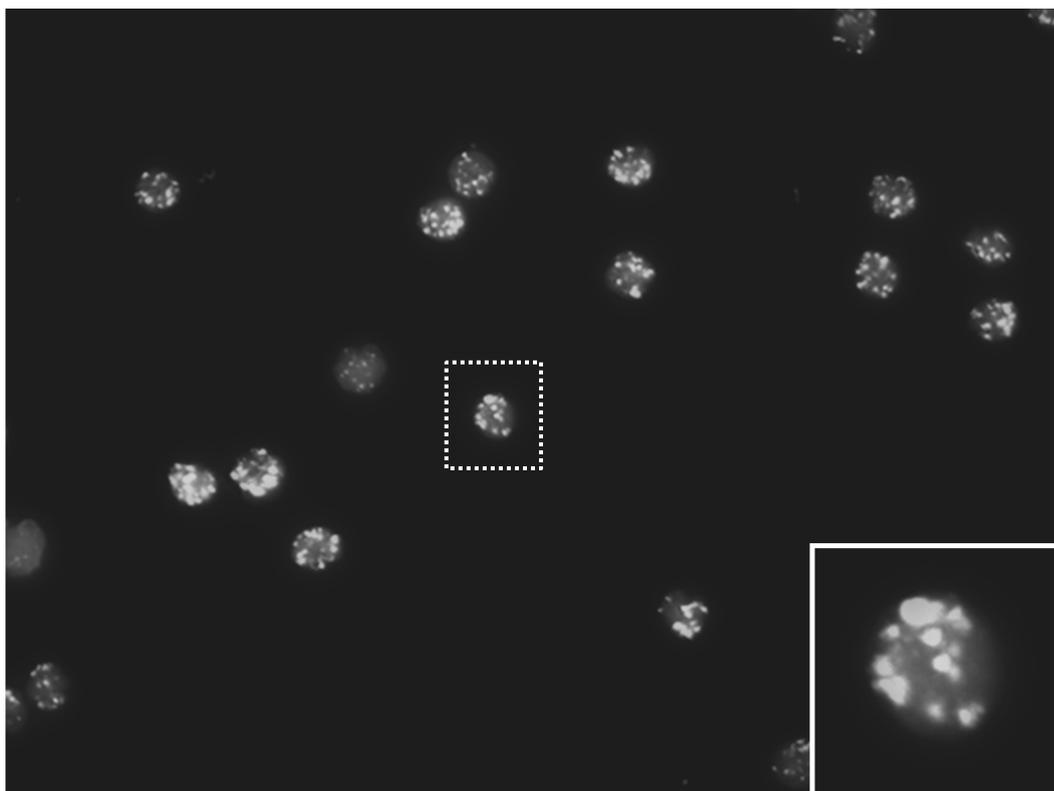


図3 2Gy照射後の血液から分離したリンパ球細胞における $\gamma$ -H2AX免疫染色  
放射線誘発 $\gamma$ -H2AXフォーカスがはっきりと検出されている。

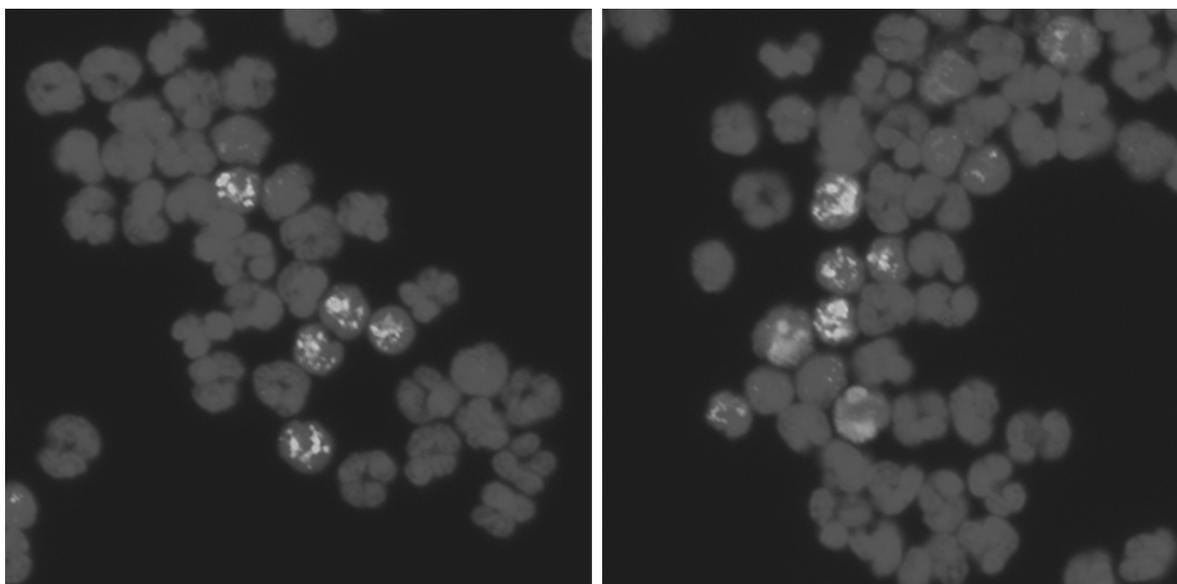


図4 2Gy照射後の全血液細胞に対する $\gamma$ -H2AX免疫染色  
リンパ球にのみ放射線誘発 $\gamma$ -H2AXフォーカスが検出されている。好中球や  
単球といった顆粒球にはフォーカス形成は認められない。  
全血液を固定後に凍結保存するため長期のサンプル保存に適している。

## 被ばくによる生体内DNA損傷レベルの測定と XバンドEPRによる被ばく後抗酸化能の動態解析

研究分担者 盛武敬 産業医科大学産業生態科学研究所放射線健康医学 准教授  
研究協力者 五十嵐友紀 産業医科大学産業生態科学研究所職業性中毒学 講師  
研究協力者 孫略 産業医科大学産業生態科学研究所放射線健康医学 産業医学基礎研究医員

### 研究要旨

放射線災害や放射線を利用したテロでは多くの公衆の中から一般災害でのトリアージ基準に加え、さらに被ばく線量推計によるトリアージが必要である。本年度はマウス実験および計画的被ばく者に対する臨床試験を利用して、被ばく線量と連動するバイオマーカーについて解析した。

### A. 研究目的

近年の世界情勢の変化により、原子力災害に加え、核や放射線を利用したテロのリスクが顕在化している。このような事故/事件が発生した際には一般災害でのトリアージ基準に加え、さらに被ばく線量推計によるトリアージが必要である。そのためには、被ばく線量と連動するバイオマーカーを明らかにし、それをトリアージに利用できる方法で検出することが求められる。

近年、培養細胞等を用いた実験により、放射線照射数時間以降にミトコンドリアからの活性酸素産生が亢進することが明らかとなっている。これにより細胞内の酸化還元バランス(レドックスバランス)が酸化方向に傾くことにより放射線影響が増強すると考えられる。本年度は放射線照射後の生体内レドックスバランスを測定し、被ばく線量推計とトリアージ利用可能か解析した。

### B. 研究方法

1.全身被ばくマウスを利用した被ばく後生体内レドックス解析

放射線照射したマウスの血中の酸化還元バランスを解析した。

2.計画的被ばく者を対象とした被ばく後生体内反応の解析

IVRはX線透視参照しながら経皮的にカテーテルを疾患部位まで挿入し、診断や治療を行う手技のことである。特に脳血疾患や心血管疾患に対して行われることが多く、被ばく線量も高くなりやすい。本研究ではヒトにおける放射線後のレドックスバランス変化を明らかにするため、心血管疾患患者10例に対して、IVR実施前後の酸化還元バランスおよびその他因子について解析した。

対象患者情報を以下に示す

試験期間	2016年1月~2016年2月
患者数	10例
年齢	73.6歳
性別	男4、女6

患者被ばく関連パラメータを以下に示す

空気カーマ	DAP
撮影回数	撮影フレーム数
透視時間	3次元撮影数

採取した試料および評価項目を以下に示す

試料	評価項目
血液	EPR酸化還元バランス リンパ球DNA損傷 血中抗酸化物質 など
尿	8-OHdG
唾液	8-OHdG

### 3.倫理面への配慮

動物実験は産業医科大学動物実験及飼育倫理審査委員会より承認を受けた。動物実験は産業医科大学動物実験管理規定に則して行われた。

ヒト対象試験は社会保険直方病院倫理審査委員会より承認を受けた。

## C. 研究結果

### 1.全身被ばくマウスを利用した被ばく後生体内レドックス解析

マウス全身にトリアージ基準となるX線0.5-2Gyを照射し、経時的に採血を行い血中の酸化還元バランスを電子スピン共鳴(electron paramagnetic resonance ; EPR)法により解析した。その結果被ばく後に一過性に酸化還元バランスが特徴的な変化を示すことが確認された。この結果は我々が以前に培養細胞を用いて得られた結果と一致していた。

### 2.計画的被ばく者を対象とした被ばく後生体内反応の解析

試験実施期間が2016年1月~2016年2月であったため、詳細な解析は来年度以降となる見込みである。ここでは暫定的な結果を報告する。

はじめに、心血管IVRの平均被ばく線量は空気

カーマが $474 \pm 293$  [mGy]、DAPが $51 \pm 30$  [mGy $\times$ cm<sup>2</sup>]となった。また、空気カーマとDAP値の相関係数 $r=0.99$ 、空気カーマと透視時間の相関係数 $r=0.30$ 、空気カーマと撮影回数の相関係数 $r=0.83$ 、空気カーマと撮影フレーム数の相関係数 $r=0.79$ となり、既存の報告とほぼ一致した。また、IVR直後に血色素量やヘマトクリットが一過性に低下した。現在抗酸化物質質量や8-OHdGについて解析を進めている最中である。

## D. 考察

マウス実験では再現性もよく概ね良好な結果が得られている。来年度は照射線量や採血ポイントを増やし、より信頼度の高いデータを蓄積する予定である。

計画的被ばく者を対象とした臨床研究では照射線量が低い上に局所被ばくであるにもかかわらず、IVR実施後に一部の指標に変化が出ており、非常に興味深い。しかしながら、患者が高齢であり基礎疾患がある点や点滴や造影剤などの放射線以外による影響を加味する必要があるため、慎重に解析が必要である。必要に応じて動物実験に立ち戻って解析をする必要があると考えている。

## E. 結論

生体レベルでも放射線照射による酸化還元バランスの変化が認められた。来年度は継続してデータを収集し、放射線災害等におけるトリアージ法としての可能性を詳細に検討する。

## F. 健康危険情報

(分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入)

## G. 研究発表

### 1.論文発表

なし

## 2.学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

### 1.特許出願

本研究で確立したトリアージ法はH28年度に特許出願予定である

### 2.実用新案登録

なし

### 3.その他

#### 学外研究協力者

千田浩一 東北大学災害科学国際研究所

稲葉洋平 東北大学災害科学国際研究所

志賀匡宣 同仁化学研究所

石田和彦 同仁グローバル

渡邊純平 同仁グローバル

## 研究へ協力される皆さまへ

平成 年 月 日

この研究の目的は、心臓カテーテル検査に使われる放射線が人体にどのような影響があるのかを詳しく調べる研究です。またビタミンCを投与することにより、放射線の影響がどのように変化するのかを調べ、将来的には体にやさしい心臓カテーテル検査が出来るようにすることを目指しています。

□1. 研究課題名

心臓カテーテル検査における放射線線量とDNA損傷ならびに解毒システムにおけるアスコルビン酸(ビタミンC)の機能解明

□2. 研究期間：平成27年4月～平成28年3月

□3. 研究目的

心臓カテーテル検査の時に受ける放射線の人体への影響を調べるとともに、ビタミンCの投与によりその影響がどのように変化するのかを調べることです。

□4. 研究方法

心臓カテーテル検査の前後、退院後1週間に血液、尿、だ液を採取します。被験者の方によっては心臓カテーテル検査の最中にビタミンCの点滴を行う場合もあります。

□5. 研究への参加の任意性とその同意の撤回

この研究に参加するかどうかは、あなたの自由意思で決めていただくこととなります。この研究に参加されない場合でも、今後あなたが不利益を受けることは一切ありません。また同意された後でも同意を撤回されるのはあなたの自由です。たとえ途中で同意を撤回されても、以後あなたが不利益を受けることは一切ありません。

□6. 予想される利益、危険性及び不利益

- A) ビタミンCの投与の際に、もし不快感など不測の事態が生じた場合には、直ちに投与を中止して適切な処置をとります。
- B) 個人情報漏洩した場合、社会的に不当な扱いを受ける危険性が考えられますが、当院の個人識別情報管理者の管理の下、研究実施責任者によって連結可能匿名化し、情報の徹底管理によって漏洩を防止します。
- C) 本研究に参加したことが原因となって、予測しなかった重篤な副作用などの健康被害を受けたときは、通常の診療と同様に適切に対処いたします。なお、当該健康被害を受けた場合には、保険による補償が受けられます。

7. 個人情報の保護

- A) 採取したあなたの生体試料（血液・尿・だ液）は、解析に使用するまで当院の検査室の冷凍庫に保管します。
- B) あなたの個人情報は、分析する前にカルテや試料の整理簿から、住所、氏名、生年月日を削り、代わりに新しく符号をつけ、あなたとこの符号を結びつける対応表は当院の個人識別情報管理者の管理の下で研究実施責任者が厳重に管理し、あなたの個人情報の漏洩を防止します。このようにあなたの個人情報を連結可能匿名化することにより、研究者が個々の解析結果を特定の個人に結びつけることができなくなります。ただし、解析結果についてあなたに説明する場合など、個々の情報を特定の個人に結びつけなければならない場合には、当院の個人識別情報管理者の管理の下でこの符号を元の氏名に戻す作業を行い、結果をあなたにお知らせすることが可能になります。
- C) この研究終了後、あなたからいただいた生体試料及び個人情報は、研究実施責任者の管理の下、匿名化を確認の後、直ちに廃棄いたします。また同意を撤回された際も、その時点までに得られた生体試料及び個人情報は、同様の方法で廃棄します。

8. 研究成果の公表

この研究によって得られた成果を学会や論文などに発表する場合には、あなたを特定できる氏名、住所などの個人情報は一切使用いたしません。

9. 研究結果の開示

研究結果をあなたが望まれる場合には、あなたに直接説明いたします。

10. 知的財産権について

この研究の成果に基づいて、特許権などの知的財産権が生ずる可能性もありますが、その権利は当院ならびに産業医科大学に帰属しあなたには帰属しません。

11. 費用について

この研究は保険診療の範囲内で行われます。また研究参加の謝礼はありません。

12. 利益相反について

本研究は、国から交付された科学研究費補助金により、産業医科大学の主任研究者のもとで公正に行われます。本研究の利害関係については、産業医科大学利益相反委員会の承認を得ており、公正性を保ちます。

説明者：社会保険直方病院 循環器内科

氏名

印

研究実施責任者：産業医科大学 産業生態科学研究所 職業性中毒学

氏名 五十嵐友紀

印

# 同意書

社会保険直方病院長 殿

平成 年 月 日

わたしは今回、直方病院および産業医科大学産業生態科学研究所職業性中毒学講座で実施される「心臓カテーテル検査における放射線線量と DNA 損傷ならびに解毒システムにおけるアスコルビン酸（ビタミン C）の機能解明」について、事前に説明文書を受け取り、研究実施担当者から、それに基づいて研究の意義、目的、方法、対象者が被り得る不利益及び危険性、個人情報保護などに関して十分な説明を受けました。さらにわたしが研究の参加に同意した後も、何時でもみずからの意思で、研究参加を取りやめることができること、及び研究参加を取りやめた後も何ら不利益を受けないことについても説明を受けました。

以上のことを理解した上で、わたしの意思により、この研究に参加することに同意いたします。

説明を受け理解した項目は次のとおりです。（〔 〕の中にご自分で○を付けて下さい。）

項 目	説明文書項目
<input type="checkbox"/> 研究の意義、目的および方法	(1-4)
<input type="checkbox"/> 研究参加の任意性とその同意の撤回の自由	(5)
<input type="checkbox"/> 予測される利益、危険性と不利益	(6)
<input type="checkbox"/> 個人情報の保護	(7)
<input type="checkbox"/> 生体試料や個人情報などの保管、使用方法	(7)
<input type="checkbox"/> 生体試料、個人情報や研究結果などの匿名化の具体的方法	(7)
<input type="checkbox"/> 研究終了後及び研究参加の撤回時の生体試料及び個人情報の廃棄方法	(7)
<input type="checkbox"/> 研究成果の公表	(8)
<input type="checkbox"/> 希望による研究結果の開示あるいは非開示	(9)
<input type="checkbox"/> 知的財産権の発生および帰属	(10)
<input type="checkbox"/> 費用の負担に関すること	(11)
<input type="checkbox"/> 利益相反について	(12)

（ご本人）

氏名 印  
住所

（代諾者）\*必要な場合のみ

氏名 印  
住所

説明者：社会保険直方病院 循環器内科 氏名 印

研究実施責任者・連絡先：産業医科大学 産業生態科学研究所 職業性中毒学  
氏名 五十嵐友紀 印

# 同意書

(研究終了後の試料等の取扱いについて)

社会保険直方病院長 殿

平成 年 月 日

わたしは今回、直方病院および産業医科大学産業生態科学研究所職業性中毒学講座で実施される「心臓カテーテル検査における放射線線量と DNA 損傷ならびに解毒システムにおけるアスコルビン酸 (ビタミン C) の機能解明」について、事前に説明文書を受け取り、研究実施担当者から、それに基づいて研究の意義、目的、方法、対象者が被り得る不利益及び危険性、個人情報保護などに関して十分な説明を受けました。さらにわたしが研究の参加に同意した後も、何時でもみずからの意思で、研究参加を取りやめることができること、及び研究参加を取りやめた後も何ら不利益を受けないことについても説明を受けました。

以上のことを理解した上で、わたしの意思により、提供する試料等が今回の研究「心臓カテーテル検査における放射線線量と DNA 損傷ならびに解毒システムにおけるアスコルビン酸 (ビタミン C) の機能解明」に使用されるとともに、当該研究終了後も平成 32 年 3 月まで保存され、研究実施責任者のもとで将来関連した研究が継続される場合に使用されることに同意いたします。

(本人)

氏名  
住所

印

(代諾者) \*必要な場合のみ

氏名  
住所

印

説明者：社会保険直方病院 循環器内科 氏名 印

研究実施責任者・連絡先：産業医科大学 産業生態科学研究所 職業性中毒学  
氏名 五十嵐友紀



### III. 研究成果の刊行に関する一覧表



研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Shimura T, Kobayashi J, Komatsu K, Kunugita N.	Severe mitochondrial damage associated with low-dose radiation sensitivity in ATM- and NBS1-deficient cells.	Cell Cycle			In press

