

研究結果の概要 (H29 年度-総括研究報告書)

研究目的

これまで L バンド電子常磁性共鳴測定法 (EPR/ESR) により線量を推計する装置を国内で唯一保有しており、実用性 (2016) や歯の特性の影響 (2017)、放射線特性 (2016) の検証を進めてきた。本研究は、さらに新たな手法も組み合わせた高線量被ばく者の迅速なスクリーニング法開発を目指して実施した。

1. 電子スピン法を用いた線量推計手法

口腔内の歯を用いる L-band EPR 法トリアージに用いる際の課題を明らかにすることを目的として実施した。

2. リン酸化型ヒストン H2AX を用いた DNA 損傷モニタリング法

バイオアッセイによる方法として、 γ -H2AX を用いた DNA 損傷モニタリング法は、事故現場における解析作業が困難である。そこで、これらの課題を克服した迅速な線量評価法の確立を目指す研究を実施した。

3. 抗酸化能や酸化ストレス度に着目した手法

ESR スピントラップ法で全血の抗酸化能を解析し、新規バイオドシメトリ手法として有望か検証を試みた。また、被ばく後のレドックスバランスの変化とリンパ球の DNA 損傷量の変化との関連も検証した。さらに、計画被ばく者を対象に、線量指標となるバイオマーカーを探索した。

4. 放射線曝露の指標としてのミトコンドリア損傷

新たな生物学的評価法として、1Gy 以上の X 線急性照射で、ミトコンドリアに酸化損傷を誘導することを明らかにしてきた (Cell Cycle, 2017)。被ばくから時間が経過した際のミトコンドリア損傷を指標とした放射線の被ばく線量評価法の確立に取り組んだ。

研究方法

1) 電子スピン共鳴法を用いた線量推計法の開発

紫外線の影響の検証、電磁波ノイズの制御法、高 LET 放射線として中性子への応答、被災動物の歯の測定、被災動物の歯の計測を行った。

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

γ -H2AX アッセイデバイスとしての PDMS チップ上への細胞導入方法および固定効率の評価、PDMS チップによる DNA 損傷レベル解析、PDMS チップによる DNA 損傷レベル解析を行った。

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

全身被ばくマウスを利用した被ばく後の生体内レドックス等の解析や被ばく後 DNA 損傷レベルの解析、計画的被ばく者を対象とした被ばく後の生体内反応の解析を行った。

4) ミトコンドリア酸化損傷を指標とした生物学的手法による線量評価

急性照射と分割照射等で照射を行い、ミトコンドリア生合成を制御する転写因子の発現量を定量した。またミトコンドリア由来の活性酸素も検出した。さらにミトコンドリア酸化損傷検出系を確立した。

結果と考察

1) 電子スピン共鳴法を用いた線量推計法の開発

車載可能なシールドテントの開発の課題を明らかにした。太陽紫外線の影響に関して、トリアージの妨げにはならないことを確認した。

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

Polydimethylsiloxane (PDMS) チップの脱気によりシンプルな実験操作によって細胞の PDMS チップへの固定が可能であることを示した。また、流路内の閉塞の対応が必要であるものの、線量依存的な γ -H2AX の上昇を確認した。

放射線線量評価が 0 ~ 5 Gy の範囲で可能であることが示唆された。

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

被ばく後に血液抗酸化能が線量依存的に特徴的な変化を示すことを明らかにした。また、 γ H2AX foci 数解析と抗酸化能測定を組み合わせて、被ばく直後から 10 日前後までシームレスに線量が推定できることを示した。これらの検査は全血 150 μ L で可能で、混乱下での線量推定で優位性がある。さらに、心臓カテーテル検査の患者を対象にした研究を行い、アスコルビン酸の防護作用の一端が示唆された。

4) ミトコンドリア酸化損傷を指標とした生物学的手法による線量評価

ミトコンドリアの活性化の後、副産物として活性酸素量が増加し、ミトコンドリアに損傷を誘導することを示すなど、放射線照射によるミトコンドリア損傷の機序を明らかにすると共に、急性照射と分割照射の照射条件の違いで、ミトコンドリアの放射線応答が異なることも明らかにした。

以上より、ミトコンドリア損傷も、緊急被ばく時のトリアージのための線量評価法としても応用可能であると考えられた。

結論

1) 電子スピン共鳴法を用いた線量推計法の開発

オンサイトでも口腔内で安定して線量測定ができるために解決すべき課題を提示し、本システムの社会実装が現実的なものになり得ることを検証した。

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

リンパ球分離および γ -H2AX アッセイデバイスとしての PDMS チップの開発を継続して行い、線量評価デバイスとしての有用性が証明され、緊急被ばく時における「現場」での線量評価の可能性を示唆した。また、今後の改善課題が明確となった。

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

1Gy 前後の被ばく後の生体の血液抗酸化能が線量依存的に変化することを、明らかにした。また、方法の組み合わせにより、被ばく直後から 10 日後程度までの期間に線量が推定できることを示唆した。さらに、心臓カテーテル検査での放射線照射で、DNA 損傷量の増加などの変動を見出した。

4) ミトコンドリア酸化損傷を指標とした生物学的手法による線量評価

急性照射では、1Gy 以上でミトコンドリア酸化損傷、線量依存的に増加することを明らかにし、緊急被ばく時のトリアージでのミトコンドリア損傷の指標としての可能性を示した。