

研究課題名 「生体中の放射線核種濃度と分布に関する研究」

所属研究機関名 独立行政法人 放射線医学総合研究所

研究者氏名 木村真三

・研究計画の概要

研究の趣旨・目的

当該課題の趣旨・目的について記述。

東海村臨界事故では中性子線による放射化および漏洩希ガスからの壊変生成核種の影響が問題とされた。また、チェルノブイリの事故では I-131、Cs-137、Sr-90 等の大気中への拡散により今なお広い範囲で汚染が見いだされている。本研究では、このような事故時とともに平常時に環境中に放出された放射性物質が体内に取り込まれた場合の体内における濃度分布を明らかにすることにより、環境中から人体に取り込まれるメカニズムをより詳しく理解し、内部線量評価モデルを生物学的に意味あるものに改良する目的である。既に東海村臨界事故の際に環境中に放出された放射性物質の汚染状況を視覚的に捉える方法を開発している。これにより体内へ取り込まれる核種の情報を得ることができる。本研究では更に動物実験等により生体内に取り込まれた微量の放射性物質の臓器中への蓄積が組織または器官内部で局在するか否かを検討すると共に、どのような生体内物質と結合して、臓器中に蓄積し、代謝されるかを検討する。将来的には、肝臓、腎臓等での放射性物質の組織内分布を明らかにする。この結果は、臓器中の放射性物質の蓄積による慢性的放射線被ばく線量を求めるためのモデルの改良にも役立ち、微量放射線による人体影響に関する知見を一般化していくためにも重要なものである。

研究計画の概要

上述の研究の趣旨・目的を達成するための研究計画の概要について記述。

原発事故等で大気中に放出された放射線物質の人体への取り込みによる各臓器への蓄積を推定するために、動物に放射性物質を投与する実験を行う。臓器中の分布状態はイメージングプレート(IP)による2次元分布を調べる。トリウム等の長半減期微量放射性核種の推定には、誘導結合プラズマ質量分析装置(ICP-MS)を用いる。臓器を構成する蛋白質および生体高分子などと放射性物質が結合しているか否かは、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて各分子量毎に分離し、ICP-MSにより核種あるいは元素を定量することにより調べる。続いて、臓器全体の放射性物質の量との比から高濃度に存在している分子量画分を検出する。検出した生体内放射性物質結合物質を同定するために高分子量であるならばアミノ酸分析、低分子量ならば質量分析等を行う。生体内放射性物質結合物質が臓器中に局在するか否かを組織化学的手法により明らかにする。これらの結果を参考にして、人体試料もしくは、動物実験試料を用いて臓器中に不均一に蓄積した放射性同位元素の量を測定し、核種の体内移行・蓄積の過程に関する新たなパラメータを設定する。

研究計画の詳細報告

(単位:百万円)

研究項目	所要経費			
	12年度	13年度	14年度	合計
1. トロトラスト患者臓器に於ける Th の臓器・器管内分布に関する研究	9.07	5.59	1.62	16.28
(1) イメージングプレートによる放射性核種の生体内分布および線種分離法の確立	0.81	1.03		1.84
(2) トロトラスト患者臓器の Th-232 の臓器内分布およびその濃度の研究	8.26	4.56	1.62	14.44
2. マイクロアレイ技術を用いた Mn 感受性遺伝子の検索	2.99	3.44	5.81	12.24
(1) Mn 暴露実験の予備的研究	2.39	0.69		3.08
(2) 酵母を用いた Mn 暴露による特異的遺伝子発現実験	0.60	2.75	1.81	5.16
(3) Mn 関連の既知遺伝子と未知遺伝子との分離			4.00	4.00
3. 生体内に於ける重金属結合物質に関する研究				
(1) 重金属と重金属結合物質との生理学的役割の検証	0.31 0.31	4.51 2.14	6.04	10.86 2.45
(2) 免疫組織染色法による Mn 輸送タンパクおよび重金属結合タンパク質の生体内分布の確認		2.37	6.04	8.41
所要経費(合計) (管理費を含む)	14	15	15	44

・研究成果の概要

研究成果の概要

研究成果について記述。

・イメージングプレートによる放射性核種の生体内分布および線種分離法の確立

トトロラスト患者の臓器・組織内分布を探る上で放射線によるオートラジオグラフィの研究成果をイメージングプレートにより検討した。現在ではトトロラスト患者の減少に伴い、その臓器は非常に貴重なものとなった。そこで、放射性核種の生体内分布を探る手始めとして、チェルノブイリより持ち帰った生体試料を用いた測定法を試みた。チェルノブイリ試料中に含まれる放射性核種の大部分は、 β 線、 γ 線放出核種である Cs-137、純 β 線放出核種である Sr-90 であった。イメージングプレートは放射線を画像化することには優れているが、エネルギー特性や線種毎による分離には向いていない。そこでシダ、ヨモギ、松、魚類を用いて遮蔽材の種類をメタクリル樹脂、銅、金、カドミウム、鉛を用いて、線種分離を試みた。この結果、 β 線と γ 線を分離することを可能にした。また、イメージングプレートの特徴を最大限活かすために画像をより鮮明にすることを優先すると遮蔽材の厚みを極力抑えなければならなかった。そのためには高密度の素材である金や鉛を使用することになるが、 β 線を遮蔽する際の制動X線が発生するという問題が起こった。

・トトロラスト患者臓器の Th-232 の臓器内分布およびその濃度

トトロラスト患者臓器より生体内に取り込まれた Th-232 の臓器中への蓄積が組織または器官内部で局在するか否かをオートラジオグラフィにより検討した。さらに、その濃度分布を誘導結合プラズマ質量分析法を用いて検討した。これらの結果より、Th-232 は肝臓よりも脾臓に多く存在することが明らかになった。これまでのトトロラスト研究においても同様の報告がなされており、脾臓クッパー細胞に取り込まれていると推察される。また、肝臓の切片像より Th-232 の分布は毛細血管に集まっている事を確認した。また、その濃度は標準日本人に比べ脾臓で1グラム当たり29,000,000倍、肝臓で1,583,000倍であった。

・酵母を用いた Mn 暴露による特異的遺伝子発現実験

細胞内 Mn 取り込み機構関連遺伝子の検出に関しては酵母菌に Mn 曝露を行い最適条件の検討を行った。酵母菌の Mn 高感受性遺伝子の検索は、マイクロアレイ技術により特定発現遺伝子の同定を試みた。その結果、幾つかの感受性遺伝子を検出できた。その中で唯一 Mn 膜輸送タンパク質遺伝子として知られている SMF 群(SMF1, SMF2, SMF3)は Mn 暴露による誘導が確認できなかった。誘導過程に副次的な誘導が有るか否かを検討中であり、更に詳しい解析を行っている。

・ Mn 関連の既知遺伝子と未知遺伝子との分離

Mn を暴露させた際にその遺伝子が誘導されないのは幾つかの問題が予想された。1 つには使用する液体培地の中にある程度の Mn が存在している。誘導結合プラズマ原子発光分析法による培地中に含まれている Mn 濃度は培地 1g あたり 20 μ g であった(20ppm)。Mn は必須微量元素であるため常に細胞内に補充されている状態が続いている事が予想された。現在、培地から Mn だけを取り除き、Mn 欠乏状態を作った上で Mn 輸送タンパクの発現を調べる実験を行った。その結果、当初予想していた既知 Mn 輸送タンパク質遺伝子 SMF 群は確認できなかった。興味ある結果としては、Mn 欠乏状態で誘導される遺伝子群は Fe 輸送タンパク関連遺伝子が上位を占めていた。このことは、Fe と Mn の共通関連遺伝子が存在することを示唆していた。さらに、全く未知の遺伝子が誘導されたため、その機能と誘導タンパク質について今後検討にはいる。

・ 免疫組織染色法による Mn 輸送タンパクおよび重金属結合タンパク質の生体内分布の確認

Mn 結合タンパクとしてトランスフェリン、Mn-SOD といったタンパクが確認された。このほか、重金属結合低分子量たんぱく質である(MT)は Zn の恒常性維持や有害重金属である Hg や Cd の解毒といった生理学的役割を担っている。これまで、Mn の特異的結合タンパクは知られておらず、その輸送機構も血中アルブミンに非特異的結合により行われていると考えられてきた。そこで、Cu、Ag、Mn の輸送タンパクを知る上で MT の誘導状態を観察した。

また、Mn 結合タンパク質である Mn-SOD は、活性酸素消去に非常に深く関わり合っている。その Mn-SOD の変性による疾病も報告されていることから、Mn 以外の摂取量の多い金属についても分布やその結合状態を調べた。

波及効果、発展方向、改善点等

研究成果もたらす波及効果、成果の発展の方向性等について記述。

臓器中に不均一に蓄積した放射性同位元素の量を測定し、核種の体内移行・蓄積の過程に関する

新たなパラメータを設定することに寄与するものである。また、微量放射性物質の生体への移行メカニズムや生体影響を生体内結合物質との関連から調べることは、環境中の放射能汚染を伴う放射線災害時等に対処していくために寄与するものである。

更に放射線防護以外の社会的貢献として、先の東海村臨界事故でも検出された Mn-54 を用いた臓器・組織内濃度分布研究を進めることにより、これまで明らかにされていなかった Mn の特異的なミトコンドリア内吸収機構の解明に繋がる。また、Mn の局在箇所^{注1)}として知られているミトコンドリア内への Mn-54 を介した放射線障害発生機構^{注2)}、Mn の代謝機構、生体作用機構、パーキンソン病の発生機構^{注3)}などの解明に寄与することが期待される。

注1:ミトコンドリア内で ATP と呼ばれるエネルギー源産生時に生じる活性酸素種スーパーオキシド(O_2^-)を分解するためにミトコンドリア内のみ Mn-SOD(スーパーオキシドディスムターゼ)が存在する。

注2:ミトコンドリア内に取込まれた Mn-54 による線障害が細胞に起こりうる可能性がある。このことは発ガンリスクのみならず、ミトコンドリアの死を意味することになり、ミトコンドリアからのエネルギー供給が絶たれる事による細胞死へとつながることが予想される。

注3:チリの Mn 鉱山で発生した鉱山労働者特有のパーキンソン病様症状。後に Mn による活性酸素生成が原因の1つとわかるものの脳への輸送経路については今なお不明な点が多く、発症過程が明らかにされていない。近年、何らかの理由によりミトコンドリア内の活性酸素が異常に産生されるために、ミトコンドリアに障害が生じるという報告もある。

. 研究成果公表等の状況

(1) 研究発表件数

	原著論文による発表	左記以外の誌上発表	口頭発表	合 計
国 内	0 件	4 件	4 件	8 件
国 際	2 件	1 件	1 件	4 件
合 計	2 件	5 件	5 件	12 件

(2) 特許等出願件数

0 件

(3) 受賞等

0 件

(4) 主な原著論文による発表の内訳

* 発表者氏名, 「発表題目」, 文献名, 巻(号), 頁, (掲載年)の順

国外誌

1. Kimura, S., Kurasaki, M. Saito, T. Ito, K. Hosokawa, T. Okabe, M. Shiraishi, K. and Niioka, T.: 'Effects of synthetic dopamine-melanin on oxygen radical formation induced by metal ions with dopamine.' *Neurosci. Res. Commun.*, **29**(1):31-40, (2001)
2. Kimura, S., Kurasaki, M. Saito, T. Ito, K. Hosokawa, T. Okabe, M. Shiraishi, K. and Niioka, T.: 'Synthetic dopamine-melanins, a model for neuromelanin, show superoxide dismutase like activity.' *Trace Elem. Electrolytes.*, **20**(): - , (2003). (in Press)

(5)主要雑誌への研究成果発表

Journal	Impact Factor
<p><u>KIMURA S. et al</u> , : Effects of synthetic dopamine-melanin on oxygen radical formation induced by metal ions with dopamine. <i>Neurosci. Res. Commun.</i> 2001; 29(1); 31-40</p>	0.670
<p><u>KIMURA, S. et al</u> , : Synthetic dopamine-melanins, a model for neuromelanin, show superoxide dismutase like activity. <i>Trace Elem. Electrolytes.</i>, 20(): - , 2003 (in press)</p>	0.563

生体中の放射性核種濃度とその分布に関する研究

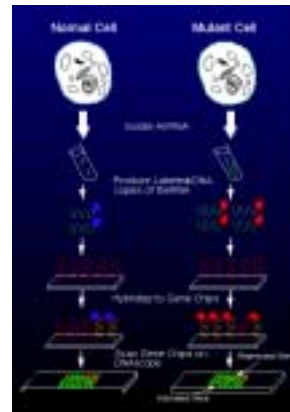
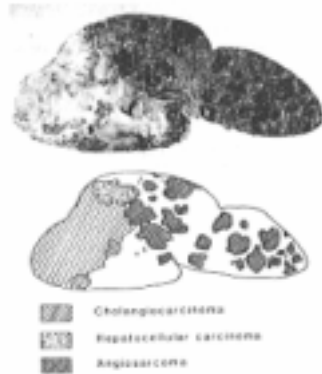


環境中に放出された放射性物質の体内への取込みによる各臓器への分布状態の確認



線核種 (Th-232) ;
トトロラスト患者の臓器によるTh結合物質同定 最終的にはThの局在化の確認

線核種 (Mn-54) ;
酵母菌を用いたMn暴露によるMn結合物質の遺伝子発現からの検索 最終的には哺乳類でのMn結合物質の同定



期待される結果

内部線量評価モデルの高精度化を図るためのパラメーターを提供

波及効果

Mnの特異的なミトコンドリア内吸収機構の解明、Mnを介した放射線障害発生機構、Mnの代謝機構、生体作用機構、パーキンソン病の発生機構などの解明