

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23510064

研究課題名(和文) 被爆者病理標本における残留放射能の検出と内部被曝の分子病態解明

研究課題名(英文) Detection of residual radiation and internal exposure in the specimen of atomic bomb victims

研究代表者

七條 和子 (Shichijo, Kazuko)

長崎大学・原爆後障害医療研究所・助教

研究者番号：90136656

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,600,000円、(間接経費) 1,380,000円

研究成果の概要(和文)：原爆被爆者について放射性物質が体内に取り込まれたという証拠はない。放射性物質の経口摂取や吸入は発がんリスクの増加に深く関わっている。1945年死亡した長崎原爆被爆者の保存試料に長崎原子爆弾の原料プルトニウムが存在し、70年経った今もなお被爆者の細胞からアルファ放射線を出し続けている画像を撮影した。原爆被爆者の肺、肝臓、骨等のパラフィン標本からは²³⁹Pu、²⁴⁰Pu特有のアルファ飛跡パターンが得られ、内部被曝の放射線量は対照群に比べ高く、被爆時の遮蔽と死亡日に関与していた。我々の結果は原子爆弾による内部被曝の科学的証拠を世界に提示し、被爆者の内部被曝の影響を病理学的に研究するひとつの橋頭保となる。

研究成果の概要(英文)：In patients subjected to Atomic bomb there was no evidence of introduction of radioactive material. A much more palpable danger would exist from the ingestion or inhalation of radioactive material to increase cancer risks. Here, we studied the preserved body cells of Nagasaki A-bombed victims in 1945, and became the first one to prove that plutonium (Pu) is continuing to emit radiations after more than 70 years in human body since the A-bomb attack. Alpha particles emitted from the specimen such as lung, liver, bone etc. were detected by autoradiography. The frequency distribution of alpha-particle track lengths of A-bomb cases was consistent with the pattern of alpha-particles emitted from ²³⁹Pu, ²⁴⁰Pu, different from that of controls. The internal radioactivity of A-bomb cases was higher than that of controls and relevant for factors of shielding and death time. Our achievement will pave the way to study 'internal A-bombed' and has contributed a lot to support the Hibakusa's insistence.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・放射線・化学物質影響化学

キーワード：線量測定・評価 内部被曝 原爆被爆者 低線量放射線 アルファ線 プルトニウム グリッドチェンバー検出器 ゲノム不安定性

1. 研究開始当初の背景

(1) 1945年8月9日長崎に投下された原子爆弾はプルトニウム爆弾である。爆弾は地上約500mで爆発した。その後、24年経った長崎の土壤中から物理学的半減期が24000年である残留プルトニウムが存在することが報告された(Sakanoue M et al, 1971)。一方、原爆被爆者について人体内に放射性物質の残存は報告されていない。原爆被爆者における放射線障害は投下中心地からの距離を指標にする外部被曝放射線量によって厳密に評価されると信じられている。しかしながら、入市被爆者における染色体異常(鎌田他2006)、1986年4月、チェルノブイリ原子力発電所事故のフォールアウト汚染地域で内部被曝住民に起こった甲状腺がんの多発は放射線の人体に及ぼす影響が内部被曝に起因することの重大性を示す。

(2) 長崎大学原爆後障害医療研究所では原爆投下直後より調査収集された学術資料や原爆被爆者の病理標本が、1973年、アメリカ陸軍病理学研究所(AFIP)から返還された。診察・剖検記録ファイル(8968件)、ホルマリン固定臓器(655症例)、パラフィンブロック(692症例)、米国返還資料である長崎原爆急性被爆者剖検例のパラフィンブロックおよび人体の代表的な内部被曝例であるトロトラスト患者の肝臓標本とブロックを用いて内部被曝の検出法を確立した(七條他2008,2009)。連携研究者らはトロトラスト発癌とアルファ線について分子病理解析を行った(Yamamoto et al, 2009)。ゲノム不安定性の分子病理学的側面から原爆被爆者と発癌について研究を行った(Naruke et al, 2009)。

2. 研究の目的

(1) 本研究の目的は、人体内残留放射能の病理学的研究を行うことである。長崎原爆被爆者病理標本の残留放射能を検出し、放射線が人体に及ぼす内部被曝の影響を分子病理学的に解明する。内部被曝は生物学的半減期・物理学的半減期によって被爆後急速に減衰するので、本研究では、被爆者剖検標本内に放射性物質が残存するなら物理学的半減期のみで減衰することに注目し、長崎急性被曝症例について人体内残留放射能を探る。

(2) 本研究における内部被曝の証明が展開して新たな発癌機構の解明につながる可能性があり、症例数を増やし、被爆距離、遮蔽、被爆地域などを含めた疫学的解析、ゲノム不安定性の検討を加え、長崎原爆被爆者について内部被曝の影響という科学的事実を社会に発信する。原爆投下後70年経った今、高齢化する被爆者救済の新たな突破口としてこの領域の人体病理学的研究を急務と考え、社会的世論を踏まえた原爆被爆者についての研究を行い、科学的証拠を提唱したい。

3. 研究の方法

(1) 米国返還資料の中から、長崎原爆被爆者として被曝距離1km以内の急性被曝症例、内部被曝例としてトロトラスト症例および対照症例のパラフィン切片およびブロックを用いる。骨、骨髄、肺、肝臓、腎臓などの病理標本についてオートラジオグラフィを行う。得られたアルファ粒子飛跡を基に放射性核種の局在部位と病理所見について検討する。アルファ粒子飛跡の長さを計測し、アルファ粒子の乳剤内におけるエネルギーと飛程の関係から放射線核種の同定を行う。

(2) ゲノム不安定性の指標である癌抑制遺伝子 p53 関連蛋白 p53 binding protein (53BP1)の発現について分子病理学的検討を行う。以上、同様にして被爆者を原爆投下地点からの距離で分類した検討、さらに、入市被爆者についての検討を行う。

(3) 購入したアルファグリッドチェンバー検出器を用いて第一に代表的な内部被曝例であるトロトラスト患者の肝臓標本を使って、次に原爆被爆者標本についてアルファ放射線量を測定する。

4. 研究成果

(1) 長崎急性原爆被爆者症例について肺、腎、骨などの組織標本についてアルファ線の飛跡を確認した。エネルギーと飛程の関係を示す Zeiglar の式による ^{239}Pu 特有のエネルギーの確立分布は長崎原爆被爆者のものとほぼ一致した(図1)。これらの結果は、長崎原爆急性被曝症例標本では、被爆後70年経った現在でも残留放射能の検出が可能であること、さらに放射線核種に ^{239}Pu を含むことが推定された。被爆者について内部被曝の証拠が得られたことは世界初である。

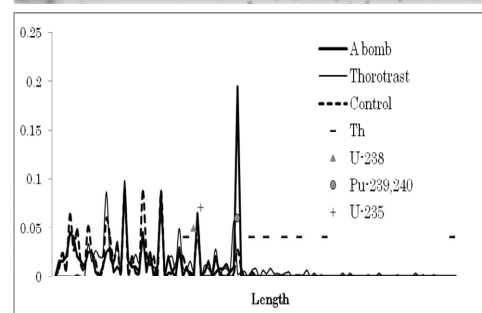
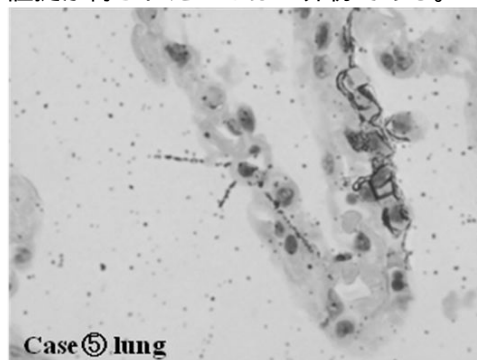


図 1 . オートラジオグラフィーによるアルファ粒子の飛跡と長さの確率分布

(2) オートラジオラフ法によるアルファ粒子の飛跡長を基にした校正標準を得るために、環境サンプル及び標準放射線源についてアルファ放射体の核種の同定を検討した。長崎土壤(1979年に採取された長崎市西山地区のもの)、 ^{210}Po 、 ^{241}Am 、 ^{243}Am はオートラジオグラフィ法による乳剤におけるアルファ粒子のエネルギーとアルファ飛跡長さの関係曲線にフィットした。その上、長崎土壤のアルファ粒子の飛跡長は長崎原爆被爆者のパラフィン標本のものとも一致した。それ故、長崎における原爆被爆者の標本におけるアルファ放射体の核種はオートラジオグラフィにより 239 、 ^{240}Pu として同定された(図2)。

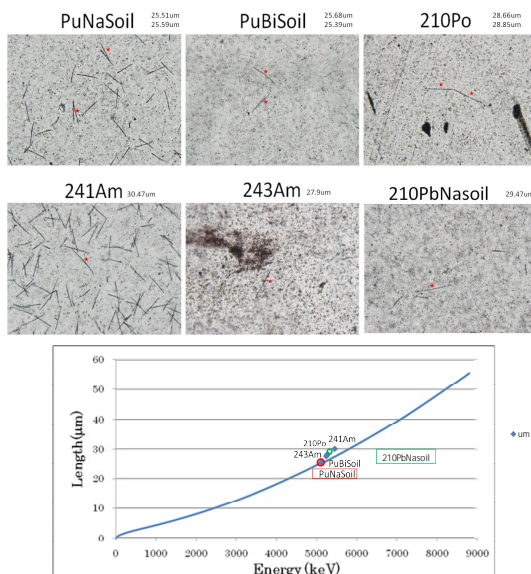


図 2 . 環境サンプル及び標準放射線源のオートラジオグラフィーによるアルファ粒子の飛跡とエネルギーの関係

(3) ゲノム不安定性に関わる分子病理学的側面から、原爆被爆者放射線発がん例ではDNA二重鎖切断部位に集積して核内フォーカスを形成する53BP1が高発現することを報告した。内部被爆例としてトロトラスト症患者1症例、長崎原爆被爆者として急性被爆7症例、非被爆者として2症例を用いて、肝臓および脾臓標本を用いて53BP1の免疫染色を行った。結果：トロトラスト症標本ではトロトラスト顆粒周辺の細胞；肝細胞、胆管上皮細胞、脾細胞に53BP1のフォーカス形成が認められ、単位面積当たりの陽性細胞数は高値を示した。原爆被爆者肝臓標本では、被爆距離0.5km、被爆後生存日数が短く、屋外被爆であった症例で53BP1発現は高値を示した。

(4) 今回、購入したアルファグリッドチャンバー検出器を用いて、トロトラスト内部被

曝症例の肝臓病理標本ではアルファ線量測定は可能であった。現在、長崎急性原爆被爆者症例を検討中である。フリッシュグリッドチャンバー検出器を付したアルファ分光システムは、最も感度の高いアルファ検出器(2ステラジアン)であり、自動電圧制御測定サイクルを有し、分解能は35 keV (^{239}Pu)である。バックグラウンド： < 1 カウント/時 (4 - 6 MeV)と記載されている。長崎原爆被爆者標本において ^{239}Pu と思われる5.306MeVでのカウントが検出されることを期待している。

(5) 今後、さらに遠距離被爆者、入市被爆者についても病理標本の抽出を行い、症例収集し、長崎原爆被爆者における内部被曝について検討したい。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計20件)

Mussazhanova Z, Miura S, Stanojevic B, Rogounovitch T, Shiraiishi T, Kurashige T, Shichijo K, Kaneko K, Takahashi H, Ito M, Nakashima M. Radiation-associated small cell neuroendocrine carcinoma of the thyroid: a case report with molecular analyses. Thyroid 査読有 24, 2014, 593-598

DOI: 10.1089/thy.2013.0214.

Orim F, Bychkov A, Shimamura M, Nakashima M, Ito M, Matsuse M, Kurashige T, Suzuki K, Saenko V, Nagayama Y, Yamashita S, Mitsutake N. Thyrotropin signaling confers more aggressive features with higher genomic instability on BRAFV600E-induced thyroid tumors in a mouse model. Thyroid 査読有, 24(3), 2014, 502-510 DOI: 10.1089/thy.2013.0038.

Khan KN, Fujishita A, Kitajima M, Hiraki K, Nakashima M, Masuzaki H Occult microscopic endometriosis: undetectable by laparoscopy in normal peritoneum. Human Reproduction 査読有, 29(3), 2014, 462-472

DOI: 10.1093/humrep/det438.

Nakao K, Oikawa M, Arai J, Mussazhanova Z, Kondo H, Shichijo K, Nakashima M, Hayashi T, Yoshiura K, Hatachi T, Nagayasu T. A predictive factor of the quality of microarray comparative genomic hybridization analysis for formalin fixed paraffin-embedded archival tissue. Diagnostic Molecular Pathology 査読有 22, 2013, 174-180

DOI:10.1097/PDM.0b013e31828191de.

Hamuy R, Kinoshita N, Yoshimoto H,

- Hayashida K, Houbara S, Nakashima M, Suzuki K, Mitsutake N, Mussazhanova Z, Kashiyama K, Hirano A, Akita. One-stage, simultaneous skin grafting with artificial dermis and basic fibroblast growth factor successfully improves elasticity with maturation of scar formation. *Wound Repair and Regeneration* 査読有 21(1), 2013, 141-154
DOI:10.1111/j.1524-475X.2012.00864.x
- Khan KN, Kitajima M, Fujishita A, Nakashima M, Masuzaki H. Toll-like receptor system and endometriosis. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research* 査読有, 39(8), 2013, 1281-1292
DOI: 10.1111/jog.12117.
- Khan KN, Kitajima M, Inoue T, Tateishi S, Fujishita A, Nakashima M, Masuzaki H. Additive effects of inflammation and stress reaction on Toll-like receptor 4-mediated growth of endometriotic stromal cells. *Human Reproduction* 査読有, 28(10), 2013, 2794-2803
DOI: 10.1093/humrep/det280.
- Nagaoka K, Yanagihara K, Harada Y, Yamada K, Migiyama Y, Morinaga Y, Izumikawa K, Kakeya H, Nakashima M, Nishimura M, Kohno S Establishment of a New Murine Model of Liver Abscess Due to *Fusobacterium necrophorum* via Injection into Caudal Vein. *Journal of Medical Microbiology* 査読有, 62(11), 2013, 1755-1759
DOI: 10.1099/jmm.0.062067-0.
- Akilzhanova A, Nurkina Z, Momynaliev K, Ramanculov E, Zhumadilov Z, Rakhypbekov T, Hayashida N, Nakashima M, Takamura N Genetic profile and determinants of homocysteine levels in Kazakhstan patients with breast cancer. *Anticancer Research* 査読有, 33(9), 2013, 4049-4059
DOI:なし
- Bychkov A, Saenko V, Nakashima M, Mitsutake N, Rogounovitch T, Nikitski A, Orim F, Yamashita S. Patterns of FOXE1 expression in papillary thyroid carcinoma by immunohistochemistry. *Thyroid* 査読有, 23(7), 2013, 817-828
DOI: 10.1089/thy.2012.0466.
- Toyoda T, Tosaka S, Tosaka R, Maekawa T, Cho S, Eguchi S, Nakashima M, Sumikawa K. Milrinone-induced postconditioning reduces hepatic ischemia-reperfusion injury in rats: the roles of phosphatidylinositol 3-kinase and nitric oxide. *Journal of Surgical Research* 査読有, 186(1), 2013, 446-451
DOI: 10.1016/j.jss.2013.09.007.
- Mussazhanova Z, Matsuda K, Naruke Y, Mitsutake N, Stanojevic B, Rougounovitch T, Saenko V, Suzuki K, Nishihara E, Hirokawa M, Ito M, Nakashima M. Significance of p53-binding protein 1 (53BP1) expression in thyroid papillary microcarcinoma: association with BRAFV600E mutation status. *Histopathology* 査読有, 63(5), 2013, 726-734
DOI: 10.1111/his.12233.
- Khan KN, Kitajima M, Fujishita A, Hiraki K, Matsumoto A, Nakashima M, Masuzaki H Pelvic pain in women with ovarian endometrioma is mostly associated with coexisting peritoneal lesions. *Human Reproduction* 査読有, 28(1), 2013, 109-118
DOI: 10.1093/humrep/des364.
- Otsubo R, Oikawa M, Hirakawa H, Shibata K, Abe K, Hayashi T, Kinoshita N, Shigematsu K, Hatachi T, Yano H, Matsumoto M, Takagi K, Tsuchiya T, Tomoshige K, Nakashima M, Taniguchi H, Omagari T, Itoyanagi N, Nagayasu T. Novel diagnostic procedure for determining metastasis to sentinel lymph nodes in breast cancer using a semi-dry dot-blot method. *International Journal of Cancer* 査読有, 134(4), 2013, 905-912
DOI: 10.1002/ijc.28408.
- Shichijo K, Matsuyama M, Ihara M, Miura S, Kurashige T, Nakashima M. Evidence for latent precursor (gamma-H2AX signature) that may precede colitis-associated cancer. *Gastroenterology* 査読有, 142, s82, 2012
- 松山睦美、七條和子、蔵重智美、岡市協生、三浦史郎、中島正洋：未熟および成熟ラット甲状腺濾胞上皮の放射線感受性とDNA損傷応答分子の解析。広島医学，査読無 65(4)：305-307, 2012
- 七條和子、高辻俊宏、福本 学、松山睦美、Mussazhanova Zhanna、三浦史郎、蔵重智美、関根一郎、中島正洋：長崎原爆被爆者の剖検・パラフィン標本を用いた被曝と遺伝子損傷について。広島医学，査読無 別冊 65(4)：283-284, 2012
- ムサジャノワ ジャンナ、三浦史郎、蔵重智美、松山睦美、七條和子、中島正洋：甲状腺にみられた放射線治療関連 Calcitonin 陰性神経内分泌癌。広島医学 査読無 別冊 65(4)：311-312, 2012
- 松山睦美、七條和子、蔵重智美、三浦史郎、ムサジャノワジャンナ、中島正洋：ラット甲状腺濾胞上皮のDNA損傷応答と

放線誘導オートファジーに対する年齢の影響. 長崎医学会雑誌, 査読無, 87, 2012, 269-272

Matsuu-Matsuyama M, Okaichi K, Shichijo K, Nakayama T, Nakashima M, Sekine I. Norepinephrine enhances radiosensitivity in rat ileal epithelial cells. J Radiat Res 査読有 52(3):369-73, 2011

〔学会発表〕(計 16 件)

Shichijo K. et al. Alpha-emitters and DNA damage response in specimen of atomic bomb victims at Nagasaki4th International symposium of RIRBM, Hiroshima University-Hiroshima-Nagasaki Collaborative Research on Radiation Disaster Medicine- (広島大学原爆放射線医科学研究所第4回国際シンポジウム), 2014年02月13日~2014年02月14日, コウジンホール(日本) 七條和子、他。内部被曝および外部被曝における組織障害と放射線応答について。日本放射線影響学会第56回大会 p.131 2013年10月18日~2013年10月20日ホテルクラウンパレス青森(青森市本町)

松山睦美、他。ラット甲状腺濾胞上皮の放射線に対する年齢影響日本放射線影響学会第56回大会2013年10月18日~2013年10月20日ホテルクラウンパレス青森(青森市本町)

大坪竜太、他。甲状腺濾胞性腫瘍術前診断法としての p53 - binding protein (53BP1) 蛍光免疫染色の意義第17回日本内分泌病理学会学術総会2013年10月04日~2013年10月05日関内新井ホール(横浜市西区)

三浦史郎、他。長崎原爆被爆者腫瘍組織バンクの経過報告(第3報) - 核酸の抽出、保存 -。第102日本病理学会総会2013年06月06日~2013年06月08日ロイトン札幌、札幌芸文館(札幌市中央区)

松田勝也、他。塵肺との関連が示唆された胸膜血管肉腫の1剖検例。第102日本病理学会総会2013年06月06日~2013年06月08日ロイトン札幌、札幌芸文館(札幌市中央区)

七條和子、他。長崎原爆被爆者の剖検・パラフィン標本を用いた残留放射能の検出法と内部被曝の影響について。第102日本病理学会総会2013年06月06日~2013年06月08日ロイトン札幌、札幌芸文館(札幌市中央区)

松山睦美、他。甲状腺濾胞上皮の放射線誘発腫瘍に対する年齢影響とオートファジーの関与。第54回原子爆弾後傷害研究会2013年06月02日広島国際会議場(広島市中区)

Shichijo K, et al. Internal deposition and nuclide identification of alpha-emitters by autoradiography in specimen of atomic bomb victims. at Nagasaki 3rd International symposium of RIRBM, Hiroshima University 2013年01月12日~2013年01月13日 Hiroshima

七條和子、他。内部被曝と外部被曝における遺伝子損傷とオートファジーについて日本放射線影響学会第55回大会2012年09月06日~2012年09月08日東北大学川内北キャンパス

Shichijo K, et al. Evidence for latent precursor (gamma-H2AX signature) that may precede colitis-associated cancer. Digestive Disease Week 2012年05月19日~2012年05月21日 San Diego, USA 七條和子、他。被爆者の剖検・パラフィン標本を用いた遺伝子損傷とオートファジー機構について第101回日本病理学会2012年04月26日~2012年04月28日東京

Shichijo K, et al. Nuclide identification of alpha-emitters by autoradiography in specimen of atomic victims at Nagasaki17th Hiroshima International Symposium (Lessons from unhappy events in the history of nuclear power development)(第17回広島国際シンポジウム;世界の被ばくとその影響) 2012.1.25-26Hiroshima

七條和子、他。長崎急性原爆被爆者の剖検。パラフィン標本を用いた遺伝子損傷機構について日本病理学会総会2011年4月28-30日横浜

七條和子、他。被ばく影響としての遺伝子損傷とオートファジーについて日本放射線影響学会2011年11月17-19日神戸 七條和子、他。長崎急性原爆被爆者の剖検・パラフィン標本を用いた被ばくと遺伝子損傷について第52回原子爆弾後障害研究会2011年6月5日広島

〔図書〕(計 2 件)

Shichijo K, et al. The Institute for Peace Science, Hiroshima University, IPSHU English Research Report Series No.28 Proceedings of the 17th Hiroshima International Symposium -Lessons from unhappy events in the history of nuclear power development-, 2012, p.70-73 <http://home.hiroshima-u.ac.jp/heiwa/ipshue.html>

Nakashima M, et al. Nagasaki Newspaper Publish, A New Challenge of Radiation Health Risk Management, 2012, p.137-144

〔産業財産権〕

出願状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

[http://www-sdc.med.nagasaki-u.ac.jp/pat
hology/index.html](http://www-sdc.med.nagasaki-u.ac.jp/pat
hology/index.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

七條 和子 (SHICHIJO, Kazuko)
長崎大学・原爆後障害医療研究所・助教
研究者番号：90136656

(2) 研究分担者

中島 正洋 (Nakashima, Masahiro)
長崎大学・原爆後障害医療研究所・教授
研究者番号：50284683

(3) 連携研究者

高辻 俊宏 (Takatsuji, Toshihiro)
長崎大学・環境科学部・教授
研究者番号：70163219