

令和元年5月31日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00553

研究課題名(和文) 福島原発事故の環境リスク評価のためのトウホクサンショウウオの放射線影響研究

研究課題名(英文) Studies of radiation effects on the Tohoku hynobiid salamander for environmental risk assessment of the Fukushima nuclear accident

研究代表者

府馬 正一 (Fuma, Shoichi)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所 福島再生支援本部・チームリーダー

研究者番号：40260236

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：サンショウウオに線を連続照射したところ、33 $\mu\text{Gy/h}$ では悪影響が見られず、150 $\mu\text{Gy/h}$ 以上では性成熟が阻害され、510 $\mu\text{Gy/h}$ では体重増加が抑制され、腎障害と肝細胞壊死により死亡率も増加した。福島県の高汚染地域におけるサンショウウオの線量率は最高50 $\mu\text{Gy/h}$ であったと評価されているので、現地で影響が生じる可能性は低いと考えられた。高汚染地域で採取した底質に幼生を曝露させる実験を行ったが、その地域由来の幼体で観察された皮膚病変は発生しなかった。放射線を照射した個体の肝細胞と尿細管上皮において、細胞増殖活性マーカーであるPCNA(増殖細胞核抗原)の陽性率が顕著に低下した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高汚染地域であっても福島県に生息するサンショウウオに放射線の悪影響が生じる可能性は低いことを示したことは学術的および社会的に意義が大きい。また、本研究のように、管理された実験室で長期にわたって低線量率の放射線を動物に照射し続けて、その影響を調べた例はほとんどなく、環境の放射線防護のための国際的指針作成に資するデータとして今後利用されることが期待できる。さらに、低線量率放射線被ばくによって性成熟が阻害されたり、致死的な腎障害が発生する事象はこれまで知られておらず、これらの事象が(有尾)両生類に特異的なのか、それとも動物に共通するものなのかは放射線生物学的に興味深い。

研究成果の概要(英文)：In chronic γ -irradiation experiment, no adverse effects on the Tohoku hynobiid salamander, *Hynobius lichenatus*, were observed at a dose rate of 33 $\mu\text{Gy/h}$. Sexual maturation was inhibited at 150 $\mu\text{Gy/h}$ or higher. Body weight increase was suppressed and mortality was increased due to nephropathy and hepatic necrosis at 510 $\mu\text{Gy/h}$. This suggests that a radiation exposure at the highest dose rate (50 $\mu\text{Gy/h}$) estimated in the exclusion zone of the Fukushima nuclear accident may not adversely affect this salamander. The salamander larvae were exposed to contaminated sediment collected in the exclusion zone. No skin lesions occurred in the juveniles growing from these exposed larvae, unlike the juveniles growing from the larvae collected in the exclusion zone. Positive rates of PCNA (proliferating cell nuclear antigen), a cellular marker for proliferation, were significantly decreased in the hepatocytes and tubular epithelium cells of the irradiated salamanders.

研究分野：放射線生物学

キーワード：両生類 被ばく 防護 成長 性成熟 細胞増殖

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

平成23年3月に発生した福島原発事故は、その周辺地域に深刻な放射能汚染を引き起こし、人間の健康影響だけでなく、環境への影響も懸念される事態となった。従って、そのような環境に生息する野生生物に放射線影響が生じているか否かを明らかにすることは、学術的および社会的に重要な研究課題である。

そこで、我々は、福島原発事故の高汚染地域に比較的普遍的に生息し、放射線感受性が高いことが予想される有尾両生類のトウホクサンショウウオ（以下、サンショウウオ）を研究対象にして現地調査を行った。その結果、高汚染地域におけるサンショウウオの吸収線量率は最高 $50 \mu\text{Gy/h}$ であったと評価した（引用文献①）。この線量率は、国際放射線防護委員会（ICRP）が設定した標準カエルの誘導考慮参考レベル（放射線影響が生じるかもしれない線量率； $40\text{--}400 \mu\text{Gy/h}$ ）に相当したので、詳細なリスク評価が必要と考えられた。また、高汚染地域で捕獲したサンショウウオの幼生を、実験室で飼育したところ、幼体になってから全身の皮膚に小結節が発生するという興味深い現象も観察されていた。

2. 研究の目的

福島原発事故の高汚染地域に生息するサンショウウオに放射線影響が生じるか否かを評価するため、 γ 線連続照射実験を行って線量率-効果関係を得る。また、高汚染地域由来のサンショウウオで発生した皮膚病変の原因が放射線であるか否かを汚染底質曝露実験により検証する。さらに、皮膚病変や γ 線連続照射実験で観察される放射線傷害の発生機序を解明するため、各種バイオマーカー（造血幹細胞数、細胞増殖、DNA損傷）の動態を検討する。

3. 研究の方法

(1) γ 線連続照射実験

平成24年5月に、サンショウウオの胚を飼育しながら γ 線を連続照射する実験を開始し、平成27年度末の時点でサンショウウオは亜成体にまで成長していた。この照射実験を平成28年度から30年度末まで継続した。線量率は、無照射対照、33、150、 $510 \mu\text{Gy/h}$ であった。影響評価の指標は、成長（体重）と外部形態とし、2週間毎に測定と観察を行った。また、死亡個体は、常法に従って病理学的検査を行い、死因を推定した。

(2) 汚染底質曝露実験

皮膚病変を発生した個体を捕獲した池（福島県の高汚染地域）より採取した汚染底質をボトルに入れ、汲み置き水道水を加えた曝露実験系を作成した。この系で、対照地域で採取した卵から育てたサンショウウオ幼生を1年間飼育し、底質由来の放射線（ β 、 γ 線）に被ばくさせた。曝露終了後、汲み置き水道水のみを入れたボトルに幼生を移し、幼体に変態させた。幼体は、通常条件で1年間飼育して皮膚に異常が生じるか否かを観察した。

(3) バイオマーカー動態の検索

造血幹細胞数の測定については、サンショウウオと同じ有尾両生類であるメキシコサラマンダーで確立されたコロニー形成法を試みた。細胞増殖マーカー（PCNA（増殖細胞核抗原）、Ki67、サイクリンD1）とDNA損傷マーカー（リン酸化ヒストンH2X（ γ -H2X））については、 γ 線を照射したサンショウウオで、免疫組織学的方法により測定した。また、細胞増殖能については、EdU（5-エチニル-2'-デオキシウリジン）アッセイ法も適用した。

4. 研究成果

(1) γ 線連続照射実験

成長への影響については、 $33 \mu\text{Gy/h}$ では体重増加の促進傾向が見られ、 $150 \mu\text{Gy/h}$ の体重増加は対照群との有意差が見られず、 $510 \mu\text{Gy/h}$ では体重増加が著しく抑制された（図1）。また、性成熟への影響が観察された。 $33 \mu\text{Gy/h}$ では対照群と同様に、ほぼ全個体で第二性徴（オスでは生殖結節、メスでは卵管の発達）が見られたのに対し、 150 、 $510 \mu\text{Gy/h}$ では大部分の個体で第二性徴が見られなかった（図2）。さらに、 $510 \mu\text{Gy/h}$ では死亡個体が目立ち始め、平成30年度末（照射開始後約6年11ヶ月）での生存率は、対照群が80%だったのに対し、 $510 \mu\text{Gy/h}$ では58%まで低下した。死亡個体を病理学的に検査したところ、高度

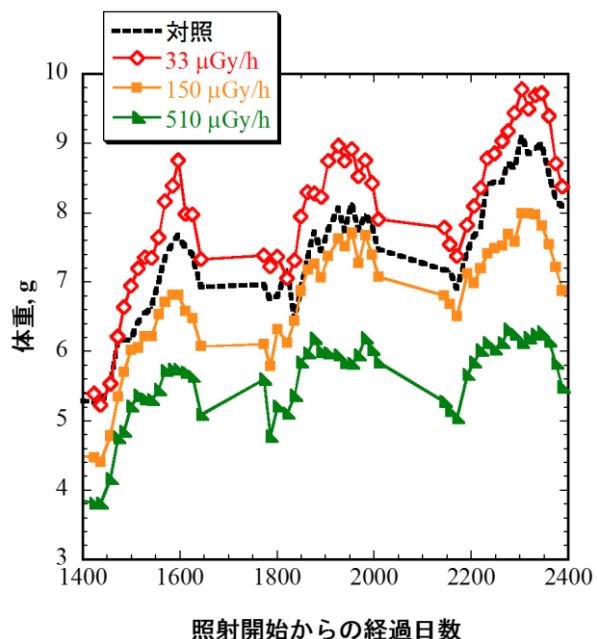


図1 γ 線連続照射したサンショウウオの体重変化

の腎臓尿管変性（図 3）により膠質浸透圧が低下して腹水が生じ、肝細胞壊死も加わって死亡したものと推定された。本照射実験のように、管理された実験室で長期にわたって低線量率の放射線を動物に照射し続けて、その影響を調べた例はほとんどなく、環境の放射線防護のための国際的指針作成に資するデータとして重要と考えられる。また、低線量率放射線被ばくによって性成熟が阻害されたり、致死的な腎障害が発生する事象はこれまで知られておらず、これらの事象が（有尾）両生類に特異的なのか、それとも動物に共通するものなのかは放射線生物学的に興味深い点である。

本照射実験で放射線の悪影響が観察された線量率は $150 \mu\text{Gy/h}$ 以上であり、 $33 \mu\text{Gy/h}$ では悪影響が観察されなかった。過去の調査研究により、福島県の高汚染地域におけるサンショウウオの吸収線量率の最高値は $50 \mu\text{Gy/h}$ であったと評価されているので（引用文献①）、高汚染地域であっても福島県に生息するサンショウウオの生存、成長、性成熟に放射線の悪影響が生じる可能性は低いことが示唆された。



図 2 γ 線連続照射によって阻害されたサンショウウオの第二次性徴

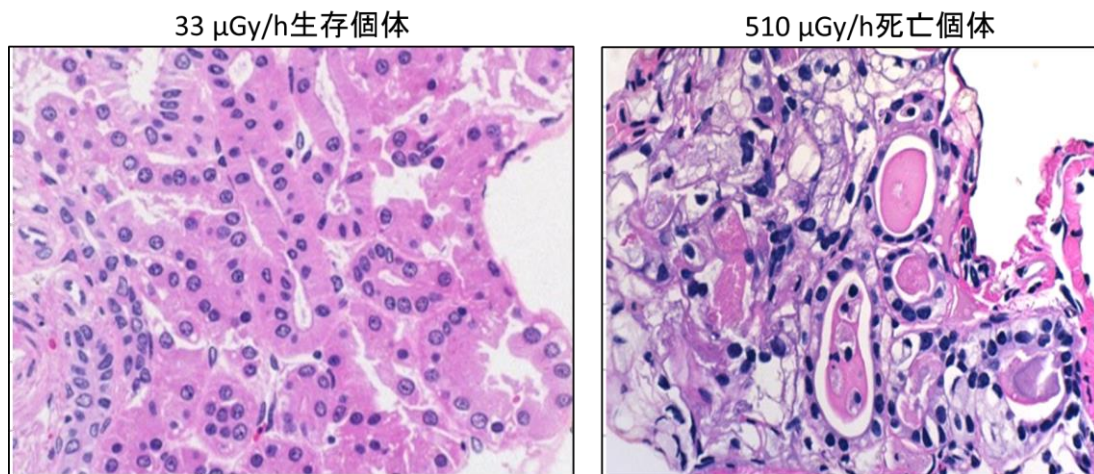


図 3 γ 線連続照射によって死亡したサンショウウオの腎臓組織像

(2) 汚染底質曝露実験

汚染底質に曝露させた幼生から成長した幼体に皮膚病変は発生しなかった。また、上記(1)の γ 線連続照射実験でも皮膚に病変は観察されなかった。従って、高汚染地域由来のサンショウウオ幼体で観察された皮膚病変の原因が放射線であるという証拠は本研究では得られなかったと結論できる。

(3) バイオマーカー動態の検索

造血幹細胞数については、メキシコサラマンダーと同様の方法ではコロニーが形成されず、測定することができなかった。DNA 損傷マーカーについては γ -H2AX の有用性を検討したが、放射線照射したサンショウウオで陽性シグナルを得ることはできなかった。細胞増殖活性については、PCNA のみで陽性シグナルが得られた（図 4）。線量率 $31 \sim 470 \mu\text{Gy/h}$ で γ 線を連続照射した幼生で PCNA 陽性率を調べたところ、肝細胞では $31 \mu\text{Gy/h}$ で最高となり、腸上皮細胞では線量率依存的に高くなり、脾臓細胞と尿管上皮細胞では $470 \mu\text{Gy/h}$ で顕著に高くなった。また、積算線量が $2.95 \sim 24\text{Gy}$ となるように γ 線を連続照射した成体では、線量依存的に腸上皮細胞の

PCNA 陽性率が低下し、24Gy では肝細胞と尿細管上皮細胞の PCNA 陽性率が顕著に低下した。この結果は、上記(1)の γ 線連続照射実験における死亡個体の病理学的検査の結果を裏付けるものであった。

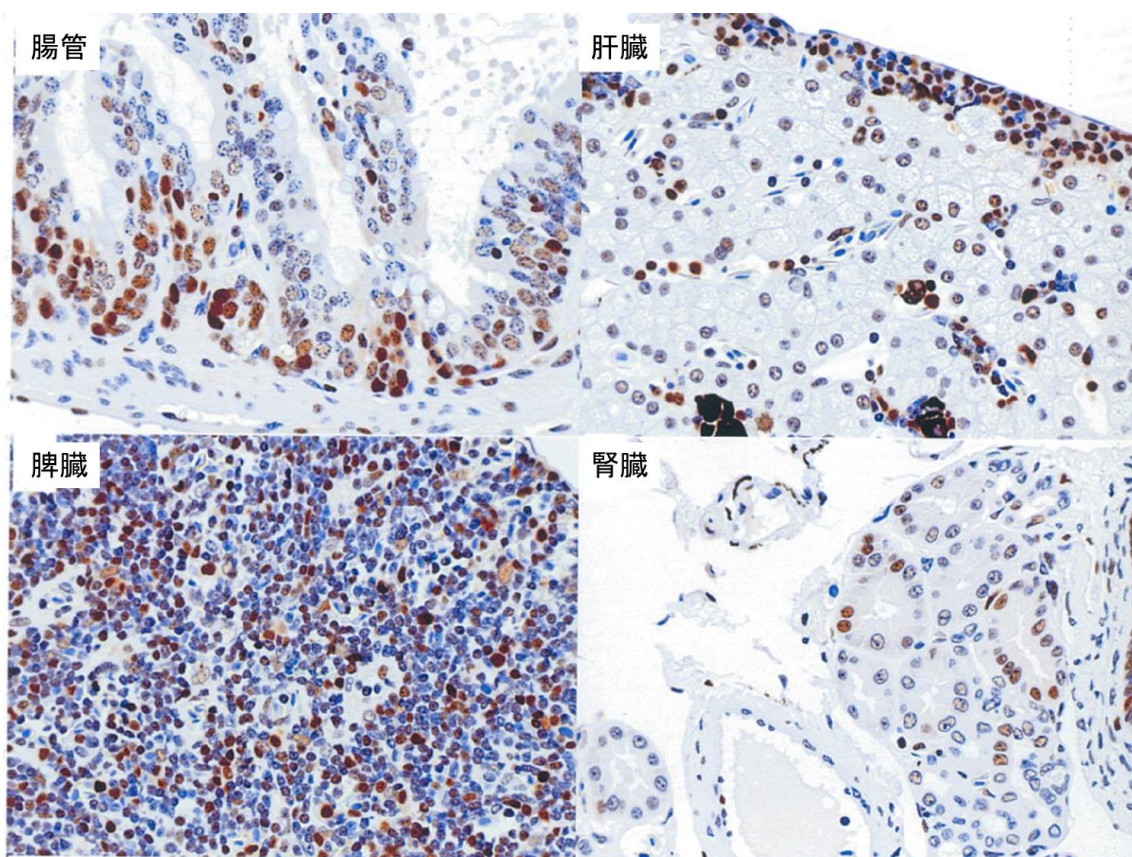


図4 サンショウウオ各臓器における PCNA 陽性細胞の分布

<引用文献>

- ① Shoichi Fuma, 他 14 名, Dose rate estimation of the Tohoku hynobiid salamander, *Hynobius lichenatus*, in Fukushima, Journal of Environmental Radioactivity, 143 巻, 2015, 123-134.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Shoichi Fuma, 他 5 名, Yoshihisa Kubota, 他 2 名, Effects of chronic γ -irradiation on growth and sexual maturation of the Tohoku hynobiid salamander, *Hynobius lichenatus*, Journal of Environmental Radioactivity, 査読あり, 196 巻, 2019, 98-103
DOI:10.1016/j.jenvrad.2018.10.017

[学会発表] (計 4 件)

- ① 藤原 千夏、他 3 名、府馬 正一、宇根 有美、実験的被曝がトウホクサンショウウオ (*Hynobius lichenatus*) に及ぼす影響の検討、第 5 回日本獣医病理学専門家協会 (JCVP) 学術集会、2018 年
- ② 府馬 正一、他 5 名、久保田 善久、他 3 名、ガンマ線連続照射が幼体期から成体期のトウホクサンショウウオに与える影響、日本放射線影響学会第 60 回大会、2017 年
- ③ 鹿野 耀子、小原 千寿香、府馬 正一、宇根 有美、実験的慢性被曝がトウホクサンショウウオ *Hynobius lichenatus* に及ぼす影響の評価法の検討、第 4 回日本獣医病理学専門家協会 (JCVP) 学術集会、2017 年
- ④ 園田 朔、添田 晴日、府馬 正一、中尾 稔、宇根 有美、トウホクサンショウウオ (*Hynobius lichenatus*) の線虫症の流行、第 4 回日本獣医病理学専門家協会 (JCVP) 学術集会、2017 年

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：宇根 有美

ローマ字氏名：(UNE Yumi)

所属研究機関名：岡山理科大学

部局名：獣医学部

職名：教授

研究者番号（8桁）：40160303

研究分担者氏名：久保田 善久

ローマ字氏名：(KUBOTA Yoshihisa)

所属研究機関名：国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構

部局名：放射線医学総合研究所 福島再生支援本部

職名：専門業務員

研究者番号（8桁）：70161685

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。