

令和元年6月13日現在

機関番号：85401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K00554

研究課題名(和文) どの程度低い放射線被曝、どの程度低い線量率被曝が循環器疾患と関連するか？

研究課題名(英文) How lower radiation dose and how lower radiation dose rate associate with circulatory diseases?

研究代表者

高橋 規郎 (TAKAHASHI, Norio)

公益財団法人放射線影響研究所・顧問

研究者番号：40333546

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)：放射線被曝したヒトの疫学調査は循環器疾患(CD)の発症リスクが線量に相関することを示唆した。この事象の明確化のために、動物実験を行った。更に、放射線によりCDが生じる作用機序を得るための研究も行った。0.1Gyの放射線を照射した易脳卒中発症性高血圧症自然発症ラット(SHRSP)では、発症時期は非照射群より早期化した。先行研究の結果と勘案すると、0.1Gy付近にしきい値が存在することが示唆された。低線量率(0.1Gy/日)放射線を照射したSHRSPでは早期化は認められなかったので、線量率が発症時期に影響することが示された。バイオマーカーの測定は、発生機序の構築に重要な情報を与えることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、放射線被曝が循環器疾患の発症リスクと関係するかという問題について、低線量・低線量率放射線に主眼を置いて検討した。この領域に関しては、ヒトを対象とした疫学研究の限界から、その情報は希少であり、また不確実な要素を多く含んでいる。一方、我々の使用した動物モデルでは極めて高感度に放射線影響を観察することが可能である。得られた結果は核施設作業員や放射性物質で汚染された地域の住民などにとっては、重要な情報源となるであろう。また、放射線がいかにして循環器疾患発症のリスク上昇と相関するかの機序を推定することは、放射線に起因する循環器疾患発症リスクの低減化に寄与することが期待できる。

研究成果の概要(英文)：Previous epidemiological findings indicated that radiation may be associated with increased risk of circulatory diseases (CD). However, since inconsistencies have been observed among various studies, studies using irradiated animals have been conducted to assess whether or not risk of CD is elevated with radiation exposure. We also have obtained information about biological mechanisms.

The stroke-prone spontaneous hypertensive rats (SHRSP) irradiated with 0.1Gy showed onset time of stroke symptom was earlier than that of unirradiated sham ones. This result, combined with previous data, suggested that there might be threshold value around 0.1Gy. Since the SHRSP irradiated with low dose rate (0.1Gy/day) did not show any effects, dose rate significantly affected the effects. To elucidate mechanisms of radiation-associated CD, we measured various biological markers. We obtained valuable data for inferring mechanisms of CD at radiation exposure and long-term effects after irradiation.

研究分野：放射線影響学

キーワード：低線量放射線 低線量率放射線 循環器疾患

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

放射線影響研究所(放影研)の原爆被爆者を対象とした疫学調査の結果は、脳卒中、虚血性心疾患、循環器疾患の発症率と線量とに統計的に有意な関連性が存在することを報告している。¹⁻³ また、健康調査集団を対象とした調査では、連続的の血圧値に小さいが統計的に有意な放射線による影響があることが観察されている。⁴ 更に、被爆者の寿命調査から、被曝線量の増加にともない心疾患の死亡率が上昇したという興味ある結果が報告された。⁵ 一方、職業上や環境中での低線量被曝と循環器疾患のリスクとの相関に関するデータは議論的になっている。虚血性心疾患や脳卒中の死亡率の増加がチェルノブイリ原子力発電所の事故の汚染除去作業で観察されている。⁶ また、英国核燃料施設の就業者やカナダ原発職員などの集団調査から循環器疾患の死亡率が線量依存的に増加する傾向があるという報告がある。⁷⁻⁹ これとは対照的に、放射線と循環器疾患による死亡率増加の相関には統計的な有意性はないという他の報告もある。^{10、11} このような矛盾を有する結果は、これらの結果が単一の原因では解釈できないことを示している。一方、放射線治療後の患者で循環器疾患のリスクが上昇するという数多くの報告がなされている。ガン罹患患者でガン治療期間中に放射線治療を受けた人たちにおいて、放射線治療が原因と考えられる疾病は主に血管障害である。例えば、放射線療法を受けた初期乳ガン患者の女性に関する研究では、血管疾患のような乳ガンに関連しない疾病による死亡率が増加することが報告されている。¹²⁻¹⁴ 頭頸部ガン患者集団に関する調査では、血管狭窄、血流減少、頸動脈の照射部における内膜肥厚の増加が同定されている。また、動脈硬化症とは通常無関係な若年集団で、虚血性脳卒中のリスクが有意に増加することが報告されている。^{15、16} しかしながら、これらの結果に反する報告もなされている。更に、精神的ストレスや生活習慣などでも循環器疾患のリスクは上がるなど、交絡因子および修飾因子の存在が問題を複雑にしている。^{17、18} そのため、『原子放射線の影響に関する国際機関』などの種々の国際機関では、動物実験により得られた知見を求めている。¹⁹

我々の実施した先行研究の結果、本研究でも使用した高血圧症自然発症ラット(SHR)では、照射後 20 週目以降において、線量の増加にともなう血圧値の上昇が観察された。また、易脳卒中発症性 SHR(SHRSP)では、比較的高い線量(0.25Gy 以上)の放射線が脳卒中発症時期を有意に早期化させることを示した。このように、この系統のラットは放射線に対して高い感受性を示すことから、これを用いれば、0.1Gy 以下のような低い線量、および低い線量率の影響が効率良く検証できる可能性が存在することが考えられた。また、このモデルを用いた研究から得られた種々の指標を用いることにより、どのようにして放射線が循環器疾患のリスクを上げるかの機序を解明するための情報を得ることが可能であると考えた。

2. 研究の目的

放射線被曝が循環器疾患と関係することは、原爆被爆者集団などの疫学データから得られている。しかし、核関連施設の作業員などから得た低線量域での結果には矛盾も含まれる。更に、原子爆弾被曝や放射線被曝などによる精神的ストレスでも循環器疾患のリスクは上がるなど、交絡因子および修飾因子の存在が問題を複雑にしている。しかし、疫学的研究手法には限界が存在するために、この問題を解決するために、動物実験により得られる放射線被曝と循環器疾患リスクの相関についての知見が種々の国際機関から求められている。しかし、他の研究施設での動物実験では比較的高い線量が使われているため、その結果は低線量被曝者には必ずしも適応できない。我々が実施した先行研究の結果では、本研究でも使用した SHR は照射線量の増加にともない血圧値が上昇すること示した。また、SHRSP では、低い線量(0.25Gy)の放射線が脳卒中発症時期を有意に早期化させることを示した。この SHRSP を用いれば、0.1Gy のような低い線量、および 0.1Gy/日のような低い線量率の放射線の影響が効率良く検証できる可能性が示された。その結果は放射性物質に汚染された地域の住民および核関連施設の作業員などの健康影響を考える際に、重要な示唆を与えることが期待される。

放射線がいかにして循環器疾患発症のリスクの上昇と相関するかの機序を調べる。機序の推定は、放射線による循環器疾患発症リスクの低減化に寄与することが期待できる。

3. 研究の方法

(1) 一括照射の実験においては、疾患モデル研究センターより購入した 4 週齢のオス SHRSP を 1 週間慣らし飼ったのち、即ち 5 週齢で広島大学・原爆放射線医科学研究所(原医研)のガンマ線照射装置を用いて放射線照射を行った。対照群としては、照射していないラットを用いたが、その際において、放射線を照射した以外は、全て同じ環境(例えば、ストレスをできるだけ同一にするために、非照射群においても、照射群に行ったのと同じように、照射中の体位の変化を妨げるためにプラスチック容器に入れ、照射装置内に同じ時間置いた。但し、照射はしていない)で実験を行った。

(2) 低線量率放射線照射の実験の場合は、疾患モデル研究センターより購入した 4 週齢のオス SHRSP を 1 週間慣らし飼ったのち、原医研の低線量率照射装置を用いて照射した。次記の照射期間が終了した後は、非照射野に移動して飼育し、脳卒中の発症時期を観察することにより線量率の変化が発症時期にどのような影響を及ぼすかを観察した。具体的には、線量率としては 0.1Gy/日を、また集積線量としては 0.5Gy(0.1Gy/日 × 5 日)および 1Gy(0.1Gy/日 × 10 日)を用いた実験を行った。

(3) 放射線被曝がどのようにして循環器疾患をもたらすかの機序の研究を実施した。この目的には先行研究で行った、SHR に 1、2、4Gy 照射した後 10 週目、20 週目および 30 週目で得た血清試料を用いた。対照としては照射していない SHR から同時期に得たものを用いた。

サイトカインの測定にはバイオラッド社の 23 プレックス【インターロイキン(IL)-1 アルファ(1)、1 ベータ(1)、2、4、5、6、10、12p70、13、17 アルファ(17)、18 およびエリスロポエチン(EPO)、マクロファージコロニー刺激因子(M-CSF)、顆粒球コロニー形成刺激因子(G-CSF)、顆粒球単球コロニー刺激因子(GM-CSF)、インターフェロン-ガンマ(IFN- γ)、マクロファージ炎症性タンパク質-3 アルファ(MIP-3)、マクロファージ炎症性タンパク質-1 アルファ(MIP-1)、腫瘍壊死因子-アルファ(TNF- α)、単球遊走因子(MCP-1)、血小板・T細胞由来好酸球走化性物質(RANTES)、血管内皮増殖因子(VEGF)、成長関連ガン遺伝子(GRO/KC)】測定キットを用いて、同社のマニュアルに従った。

4. 研究成果

(1) 一括照射に関しては、0.1Gy を照射した SHRSP の脳卒中発症時期では、その有意性については境界領域であった($p=0.056$)ものの、非照射群に比べて早期化が認められた。(図 1) 一方、0.05Gy 照射した SHRSP では、早期化は全く認められなかった。(図 2) このことより 0.1Gy 近辺に“しきい値”の存在が示唆された。

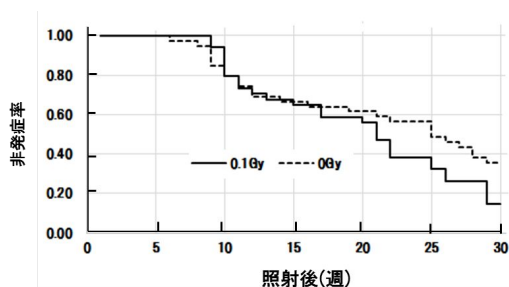


図 1. 0.1Gy の放射線を一括照射した SHRSP の発症時期

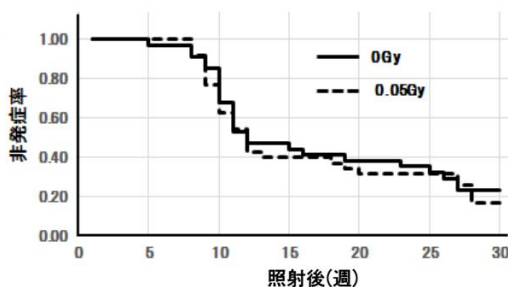


図 2. 0.05Gy の放射線を一括照射した SHRSP の発症時期

放射線被曝の循環器疾患に対する影響についてのヒトを対象とした疫学調査では、次記の結果が報告されている。従来は、この影響は“多細胞影響”と考えられ、しきい値の存在が報告された。しかし、その値は被曝したヒトの 1%が 10 年以降に循環器疾患を発症する線量から類推したもので、実際の観察に由来するものではない。(ICRP Publication 118)¹⁹ 一方、Little ら²⁰ は、10 集団からなる医療被曝および職業被曝したヒト、および原爆被曝者のうち被曝線量が 0.5Gy 以下の集団から得た死亡率データを用いて循環器疾患に関してメタ解析を行ったところ、その相対リスクは、しきい値なし直線仮説(LNT 仮説)に適応していると報告した。この結果に従えば、極めて低い線量領域においても被曝線量に比例して循環器疾患リスクが上昇することが示唆される。一方、我々が今回 SHRSP を用いた実験で得た結果では、少なくとも 0.05Gy ではリスクの上昇は認められなかった。この結果は、我々が用いたラットストレインに由来するのかもしれないが、しきい値の存在を示唆するものである。

先行研究で、我々は SHR およびウィスタ京都ラット(WKY)に放射線(1~4Gy)を照射した。この 2 種の系統のラットでは、SHRSP で認められた放射線量の上昇にともなう脳卒中の発症時期の早期化は観察されなかった。このことは、脳卒中の発症と放射線被曝との相関には遺伝的背景の違いが影響している可能性を示すものである。これらの系統のラットから得たバイオマーカーを、種々の方法論を駆使し比較して、種間に存在する相違点と同定する。その結果をもとにヒトでも有用なマーカーを同定できれば、それらを放射線によりもたらされる脳卒中ひいては循環器疾患リスクに対する『感受性の個体差』の指標とすることができる可能性がある。核施設作業員、環境汚染地域の居住者などに対する影響の軽減化についての有益な情報となることも期待される。更に、この情報は放射線治療の分野でも有効になると考えられる。即ち、個人の感受性の違いを用いた『個別化医療・治療』の分野にも展開できる可能性が期待される。

(2) 低線量率 (0.1Gy/日)放射線を集積線量が 0.5Gy(5日間)および 1Gy(10日間)になるまで SHRSP に照射した。尚、0.5Gy および 1Gy を一括照射した SHRSP においては、発症時期の有意な早期化は、先行研究で認められている。これに対して、低線量率照射したラットでは、発症時期の早期化は全く認められなかった。(図 3)

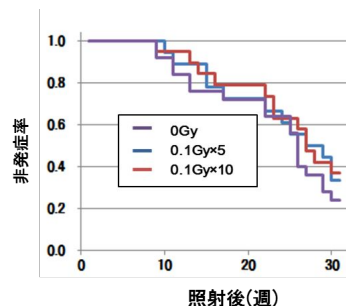


図 3. 低線量率放射線を照射した SHRSP の発症時期

従って“線量率効果係数”値は既報の値より極めて高値であることが判明した。これに対して、ICRP Publication 118では、一括照射、分割照射、緩照射の間で、そのしきい値に差はないと仮定されている。¹⁹ ヒトを対象とした疫学調査には低線量および低線量率の領域には限界があると言われている。動物実験の結果ではあるが、今回の結果は、循環器疾患(特に脳卒中)と放射線との相関についての線量率効果に関する貴重な知見であると考えている。更に、循環器疾患に関する放射線線量率効果を観察した動物実験は極めて希であることを付け加えておく。

(3) 照射後20週、30週目のSHRから得た血清のサイトカインのレベルを測定したところ、数種のサイトカインで線量にともなう濃度の上昇が認められた。例えば、図4で示したように照射後30週目で得た血清中のM-CSFの濃度は線量に比例して高値を示した。2Gyおよび4Gy照射したラットから得た血清の値は非照射に比べて有意に高値であった。また、4Gy照射したラットから照射後20週目および30週目で得た血清のMCP-1のレベルも非照射の物に比べて有意に高値であった。MCP-1の増加は糸球体へのマクロファージの動員を促進して、糸球体障害の増悪に関与することが予想される。^{21, 22} 糸球体の障害が血圧の上昇に寄与することは良く知られた事象である。

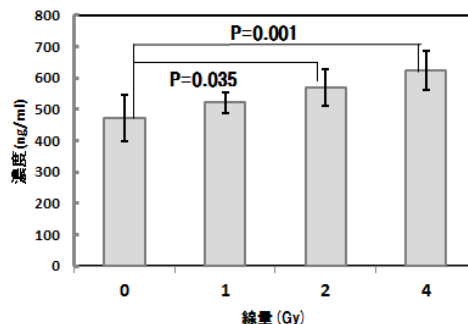


図4.照射線量とサイトカイン(M-CSF)の測定値

更に、MCP-1およびM-CSFのレベルの増加は動脈内腔へのマクロファージの浸潤を誘導する。このマクロファージが沈着した脂質を貪食して泡沫細胞となり、さらにアテロームを特徴とする動脈硬化プラークとなると言う機序も考えられる。²³ これらの事象は、血圧の上昇をもたらす一つの要因であるとも考えられる。更に、これらと同様に、GRO/KC(IL-8)の線量の上昇にともなう増加が観察された。これもマクロファージを介して粥細胞を作製して、動脈硬化を起こすと言う有力な機序を示唆している。循環器疾患の進展に影響を及ぼすことが知られている²⁴ IL-1の増加も観察された。このように種々のサイトカインの測定は、どのようにして放射線被曝と循環器疾患リスクとが相関していくかの機序を構築するにあたり有用な情報源となることが示唆された。

<引用文献>

1. Preston DL et. al.: Studies of mortality of atomic bomb survivors. Report 13: Solid cancer and noncancer disease mortality: 1950-1997. *Radiat Res* 160(4):381-407, 2003
2. Yamada M et. al.: Noncancer disease incidence in atomic bomb survivors, 1958-1998. *Radiat Res* 161(6):622-32, 2004
3. Yamada M et. al.: Prevalence of atherosclerosis in relation to atomic bomb radiation exposure: an RERF Adult Health Study. *Int J Radiat Biol* 81:821-6, 2005
4. Sasaki H et. al.: The effects of aging and radiation exposure on blood pressure levels of atomic bomb survivors. *J Clin Epidemiology* 55:974-981, 2002
5. Shimizu Y et. al.: Radiation exposure and circulatory disease risk: Hiroshima and Nagasaki atomic bomb survivor data, 1950-2003. *BMJ* 340:b5349, 2010
6. Ivanov VK et. al.: The risk of radiation-induced cerebrovascular disease in Chernobyl emergency workers. *Health Phys* 90(3):199-207, 2006
7. McGeoghegan D et. al.: The non-cancer mortality experience of male workers at British Nuclear Fuels plc, 1946-2005. *Int J Epidemiol* 37(3):506-18, 2008
8. Ashmore JP et. al.: First analysis of mortality and occupational radiation exposure based on the National Dose Registry of Canada. *Am J Epidemiol* 148(6):564-74, 1998
9. Muirhead CR et. al.: Mortality and cancer incidence following occupational radiation exposure: third analysis of the National Registry for Radiation Workers. *Br J Cancer* 100(1):206-12, 2009
10. Muirhead CR et. al.: Studies of occupational radiation exposure and health: experience from the UK National Registry for Radiation Workers. *Radiat Biol Radioecol* 48(2):212-7, 2008
11. Kreuzer M et. al.: Mortality from cardiovascular diseases in the German uranium miners cohort study, 1946-1998. *Radiat Environ Biophys* 45(3):159-66, 2006
12. Darby SC et. al.: Long-term mortality from heart disease and lung cancer after radiotherapy for early breast cancer: prospective cohort study of about 300,000 women in US SEER cancer registries. *Lancet Oncol* 6:557-65, 2005
13. Darby S et. al.: Mortality from cardiovascular disease more than 10 years after radiotherapy for breast cancer: nationwide cohort study of 90,000 Swedish women. *BMJ* 326:256-7, 2003
14. Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group (EBCTCG): Effects of radiotherapy

- and of differences in the extent of surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival: an overview of the randomized trials. *Lancet* 366:2087-106, 2005
15. Swerdlow AJ et. al.: Myocardial infarction mortality risk after treatment for Hodgkin disease: a collaborative British cohort study. *J Natl Cancer Inst* 99:206-14, 2007
 16. Smith GL et. al.: Cerebrovascular disease risk in older head and neck cancer patients after radiotherapy. *J Clin Oncol* 26:5119-25, 2008
 17. Bromet EV: Emotional consequences of nuclear plant disaster. *Health Phys.* 106(2): 206-210, 2014 doi: 10.1097/HP.000000000000012.
 18. Rahu K et. al.: Non-cancer morbidity among Estonian Chernobyl cleanup workers: a register-based cohort study. *BMJ Open.*; 4(5):e004516. 2014. doi: 10.1136/bmjopen-2013-004516.
 19. ICRP, 2012. ICRP statement on tissue reactions, and early and late effects of radiation in normal tissues and organs - threshold doses for tissue reactions in a radiation protection context. Publication 118. *Ann. ICRP* 41(1/2).
 20. Little MP et. al.: Systematic review and meta-analysis of circulatory disease from exposure to low-level ionizing radiation and estimates of potential population mortality risks. *Environ. Health Perspect.* 120: 1503-1511, 2012
 21. Wada T et. al.: Chemokines as the therapeutic targets for renal diseases. *Curr Med Chem Anti-Inflammatory & Anti-Allergy*, 2: 175-190, 2003
 22. Yokoyama H & Wada T: Chemokines in renal fibrosis and glomerulosclerosis. *Nephrology and Hypertension*, 9: 89-96, 2003.
 23. Iso Y et. al.: Contribution of Monocyte Chemo attractant Protein-1 and c-fms/Macrophage Colony-Stimulating Factor Receptor to Coronary Artery Disease: Analysis of Human Coronary Atherectomy Specimens. *J Cardiol.* 42 (1) : 29-36, 2003
 24. Gomez D, et. al. : Interleukin-1 β has atheroprotective effects in advanced atherosclerotic lesions of mice. *Nat Med.* 24(9):1418-29. doi: 10.1038/s41591-018-0124-5. Epub 2018 Jul 23.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 10 件)

高橋規郎、村上秀子、大石和佳、三角宗近、長町安希子、稲葉俊哉、田中聡、田中イグナシヤ、津山尚宏、中村麻子、水野初。低線量・低線量率放射線被曝と脳卒中リスクとの関係 第61回日本放射線影響学会大会、平成30年11月7~9日。長崎市、長崎県。

N. Takahashi, H. Murakami, W. Ohishi, M. Misumi, A. Nagamachi, T. Inaba, S. Tanaka, I. Tanaka, N. Tsuyama, A. J. Nakamura, H. Mizuno. The association between either low-dose or low-dose rate radiation exposure and increasing risk of circulatory diseases--Attempt to infer potential mechanisms underlying the radiation associated circulatory disease. 第64回米国放射線影響学会年会。平成30年9月23日~26日。米国、イリノイ州、シカゴ。

N. Takahashi, H. Murakami, Y. Niwa, W. Ohishi, M. Misumi, A. Nagamachi, T. Inaba, S. Tanaka, I. Braga-Tanaka, N. Tsuyama, A. Nakamura, K. Kodama. The association between low-dose radiation exposure and increasing risk of circulatory diseases. - Attempt to infer potential mechanisms underlying the radiation associated circulatory diseases- 第63回米国放射線影響学会年会。平成29年10月15日~18日。カンクーン市、メキシコ。

N. Takahashi, H. Murakami, Y. Niwa, W. Ohishi, M. Misumi, A. Nagamachi, T. Inaba, S. Tanaka, I. Braga-Tanaka, N. Tsuyama, K. Kodama. Attempt to assess epidemiological evidences by animal experiments. 第21回国際疫学会・世界疫学大会。平成29年8月19日~22日。大宮市、埼玉県。

高橋規郎。放射線被曝と循環器疾患の関係-動物モデル実験-。第198回原医研セミナー、平成29年7月20日。広島市、広島県。

高橋規郎、村上秀子、丹羽保晴、大石和佳、三角宗近、長町安希子、稲葉俊哉、田中聡、田中イグナシヤ、津山尚宏、児玉和紀。放射線被曝と循環器疾患の関係-動物モデル実験-。第59回日本放射線影響学会年会、平成28年10月26日~28日。広島市、広島県。

N. Takahashi, H. Murakami, W. Ohishi, M. Misumi, A. Nagamachi, T. Inaba, S. Tanaka, I. Braga-Tanaka, Y. Niwa. Study of the association between radiation exposure and circulatory diseases using spontaneous hypertensive rat (SHR) as animal models. 第62回米国放射線影響学会年会。平成28年10月16日~19日。米国、ハワイ州、ワイ

コア.

Y. Niwa, H. Murakami, W. Ohishi, M. Misumi, Y. Kusunoki, A. Nagamachi, T. Inaba, S. Tanaka, I. Braga-Tanaka, N. Takahashi. Study of radiation-related circulatory diseases using animal models: Evaluating the feasibility of spontaneous hypertensive rat (SHR) as an animal model. 第7回 MELODI 国際ワークショップ. 平成27年11月9日~11日. ドイツ、ミュンヘン.

N. Takahashi, H. Murakami, W. Ohishi, M. Misumi, A. Nagamachi, T. Inaba, S. Tanaka, I. Braga-Tanaka, Y. Niwa. Study of the association between radiation exposure and circulatory diseases using stroke prone spontaneous hypertensive rat (SHRSP) as an animal model. 第61回米国放射線影響学会年会. 平成27年9月19日~22日. 米国、フロリダ州、ウエストン.

N. Takahashi, H. Murakami, W. Ohishi, M. Misumi, Y. Kusunoki, A. Nagamachi, T. Inaba, S. Tanaka, I. Burga-Tanaka, Y. Niwa. Study of radiation related circulatory diseases using stroke prone spontaneous hypertensive rat (SHRSP) strain as animal models. 第15回国際放射線影響学会. 平成27年5月25日~29日. 京都市、京都府.

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：大石 和佳

ローマ字氏名：(OHISHI, Waka)

所属研究機関名：公益財団法人・放射線影響研究所

部局名：広島臨床研究部

職名：部長

研究者番号(8桁)：20393423

研究分担者氏名：丹羽 保晴

ローマ字氏名：(NIWA, Yasuharu)

所属研究機関名：公益財団法人・放射線影響研究所

部局名：分子生物科学部

職名：副主任研究員

研究者番号(8桁)：40284286

研究分担者氏名：三角 宗近

ローマ字氏名：(MISUMI, Munechika)

所属研究機関名：公益財団法人・放射線影響研究所

部局名：統計部

職名：研究員

研究者番号(8桁)：90457432

(2)研究協力者

研究協力者氏名：大石 和佳

ローマ字氏名：(OHISHI, Waka)

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。