

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 26 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26420872

研究課題名(和文)酸化ストレスに着目した生活環境因子と低線量放射線との健康影響の比較

研究課題名(英文) Study on comparison of health effects of living environment factors and low dose radiation focusing on oxidative stress

研究代表者

山岡 聖典 (Yamaoka, Kiyonori)

岡山大学・保健学研究科・教授

研究者番号：00314683

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：低線量放射線の健康不安を払拭するため、生活環境因子であるアルコールと放射線の肝臓への影響を比較した。分析した肝機能と抗酸化機能の結果を、自己組織化マップを用いてデータ解析した。その結果、2000Bq/m³以下のラドン24時間吸入や2Gy以下のX線全身照射では、0.5g/kg体重のアルコール投与に相当することが明らかとなり、クラスタリングによってそれらの酸化ストレスの特徴に差があることがわかった。以上のことから、低線量放射線被曝の影響は非常に複雑だが、受ける酸化ストレスは極微量であったと言える。

研究成果の概要(英文)：We compared liver damage by radiation with by alcohol which is living environment factor to dispel the fear of low-dose radiation. We analyzed liver function and anti-oxidative function in liver using self-organizing maps. The results showed that the effects of radon inhalation at a concentration of up to 2000 Bq/m³ or X-irradiation at a dose of up to 2.0 Gy were comparable with the effect of alcohol administration at 0.5 g/kg bodyweight. According to our result of clustering, their different patterns of liver damage caused by different factors. We found that the effects of low-dose X-irradiation or radon inhalation was extremely small and highly individual.

研究分野：低線量放射線の健康影響と医療応用、および環境ストレス生体応答の解析と健康長寿の実現に関する研究

キーワード：自己組織化マップ ラドン X線 アルコール 酸化ストレス 肝臓

1. 研究開始当初の背景

(1) 東電福島第一原子力発電所事故以来、低線量放射線による健康不安対策が急務となっている。しかしながら、健康不安を払拭するための方法は皆無に近い。国際放射線防護委員会は 100mSv 以下の放射線被曝では、ガンなどの健康影響は僅少と公表したが、公衆の理解を得るのは容易ではなく、放射線による健康不安は広がっている。

(2) 発がんを含む放射線の健康影響は、アルコール摂取等の生活環境因子と同じ酸化ストレスが関与している。すなわち、他の酸化ストレス源となる生活環境因子と放射線の影響は、酸化ストレスに注目して比較することができる。このような科学的根拠に基づいた検討は、低線量放射線による健康不安を少なからず払拭すると考えられる。

(3) 他方、我々はこれまで、マウスに低線量 X 線照射やラドン吸入をした場合、高線量の場合とは異なり、諸臓器中の抗酸化機能が亢進し、酸化ストレスを軽減する効果があることを報告してきた。例えば、ラドン温泉は健康長寿の湯とも謳われ、生活習慣病や老化に対する予防・治療効果が報告されている。これは、低線量放射線による健康影響を公衆に分かり易く示す事例となり、低線量放射線に対するイメージ改善が期待できる。

(4) 公衆が低線量放射線の健康影響を不安に感じる主な理由は「科学的根拠に基づく健康影響に関する説明不足」であるとの報告例がある。説明不足と感じる最大の理由は「理解のし易さ」の欠如である。そこで、本研究では「理解し易さ」に重点を置いた放射線健康影響評価を目指した。さらに、公衆に親しまれているラドン温泉の健康効果にも着目することで、公衆の低線量放射線へのイメージ改善が期待できる。このようなことから、我々は、放射線への健康不安払拭のためには多種多様な因子による酸化ストレスに関する定量的比較が有効と考え、酸化ストレスに着目した生活環境因子と低線量放射線との健康影響の比較を行った。

2. 研究の目的

本研究は、低線量放射線による健康不安を払拭するため、低線量放射線の健康影響を公衆に理解し易い研究データで示すことを目的としている。特に、東京電力福島第一原子力発電所事故以降、放射線はアルコールと同様に酸化ストレス源の 1 つに過ぎないが、放射線だけが他の生活環境因子に比べても、特別に危険視されている傾向がある。そこで、本研究では、放射線の健康影響について、生活に密着した生活環境因子であるアルコールと比較検討する。放射線被曝としては、ラドン吸入による内部被曝と X 線照射による外部被曝を検討する。

3. 研究の方法

C57BL/6J 雄 8 週齢のマウスを 1 群 6 匹使用した。マウスは、以下に述べるように、ラドン吸入・X 線照射・アルコール投与をそれぞれ施された。肝機能・肝臓中の抗酸化機能を測定し、統計処理および自己組織化マップによるデータ解析を行った。

(1) ラドン吸入

ラドン吸入には、我々が開発したラドン吸入装置を用いた。この装置は、タンク内の天然ウランを含む素焼きのタイル Doll Stone (Ningyotoge Genshiryoku Sangyo, Co., Ltd, Okayama, Japan) の枚数を変更し、ラドン濃度を制御する。Doll Stone から放出される ^{222}Rn を含んだ空気をマウスケージに送り込むことで、マウスにラドンを吸入させる。本研究では、Sham・500Bq/m³・1000Bq/m³・2000Bq/m³ の 4 群を設定し、24 時間吸入させたのち、解剖し、血清と肝臓をサンプルに供した。Sham 群は対照として、ラドン吸入装置を用いず、ポンプから周辺の空気を送った。

(2) X 線照射

X 線照射では、Sham・0.5Gy・1.0Gy・2.0Gy の 4 群を設定し、全身照射を行った。そして、照射 4 時間後に解剖し、血清と肝臓をサンプルに供した。Sham 群は対照として、X 線照射は行わず、他の X 線照射群と同様に拘束した。

(3) アルコール投与

アルコール投与では、Sham・0.5g/kg・2.0g/kg・5.0g/kg 体重の 4 群を設定し、腹腔内投与でアルコールを投与した。そして、アルコール投与 24 時間後に解剖し、血清と肝臓をサンプルに供した。Sham 群は対照として、生理食塩水を投与した。

(4) 生化学分析

肝機能は、血清を用いて GOT・GPT を分析した。抗酸化機能は、肝臓中の SOD 活性・Cat 活性・総 GSH 量を分析した。

(5) データ解析

従来統計手法を用い、多重比較のダネットの検定を行い、各群の平均値を比較した。

多次元データを二次元または三次元のマップ上に視覚的に表現できる機械学習の一種である自己組織化マップを用いて、肝機能と抗酸化機能の総合的な影響評価を行った。

実験 1 では、二次元の SOM_PAK (SOM Programming Team of the Helsinki University of Technology Laboratory of Computer and Information Science, Espoo, Finland) を用い、マップの大きさを 60×40 ユニット、学習回数を 100000 回、学習率を 0.02、学習近傍半径を 15 ユニットに設定し、アルコールの影響をマップに表現し、そのマップ上に放射線の影響を配置した。

実験 2 では、データの関係性をより反映させるため、三次元の Blossom (SOM Japan, Co. Ltd, Tottori, Japan) を用い、全データを学習させ、クラスタリングによって特徴差を見出した。各種設定は自動で行われ、対照となる Control は各 Sham 群である。

4. 研究成果

(1) 統計処理による比較

肝機能については、アルコール 5.0g/kg 群では、GOT は有意に増加しており、Sham 群の約 7 倍であった (図 1)。同様に、アルコール 5.0g/kg 群の GPT も有意に増加しており、Sham 群の約 4 倍であった。ラドン 2000Bq/m³ の GOT や X 線 1.0Gy の GPT も有意に変化していたが、GOT や GPT は肝機能に異常があると、急激に増加する特徴があるため、アルコール 5.0g/kg 群のみが肝障害になっていたと考えられる。

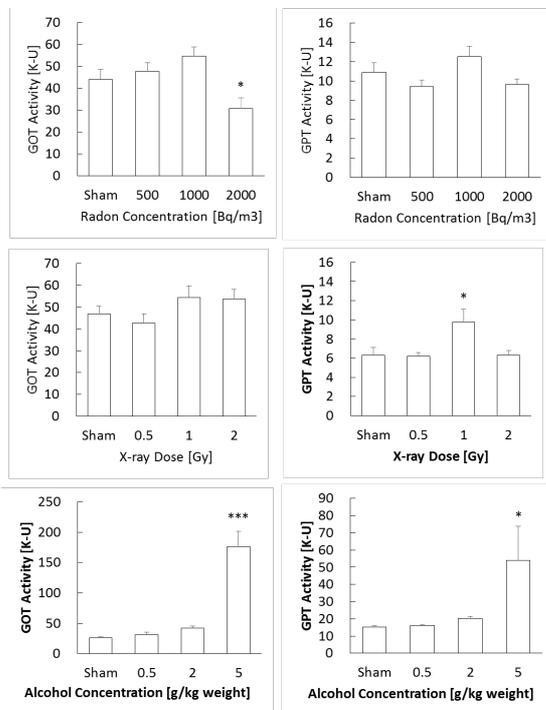


図 1 ラドン吸入，X 線照射，アルコール投与による GOT 活性，GPT 活性の変化特性。
n=6。*P < 0.05, ***P < 0.001 vs sham。

抗酸化機能については、SOD 活性は図 2 のように X 線 0.5Gy 以上の群で有意に増加し、アルコール 5g/kg 群では有意に減少した。Cat 活性は、どの群も有意な差はなかった。総 GSH 量は、X 線 2Gy 群で有意に増加し、アルコール 2g/kg 群で有意に減少した。

以上のことから、アルコール 5.0g/kg 群は酸化ストレスを受け、肝障害を起こしていることがわかる。それに対し、これまでの研究で低線量放射線は抗酸化機能を亢進すると報告してきたが、本研究でも、X 線照射の抗酸化機能亢進がはっきりと分かった。ラドン吸入での抗酸化機能亢進はわずかであった

が、実際に肝臓が被ばくした線量について X 線との差を考えると妥当とも言える。このわずかな抗酸化機能亢進がどのように酸化ストレスを軽減する効果を発揮するのか、今後、その機構を明らかにする必要がある。

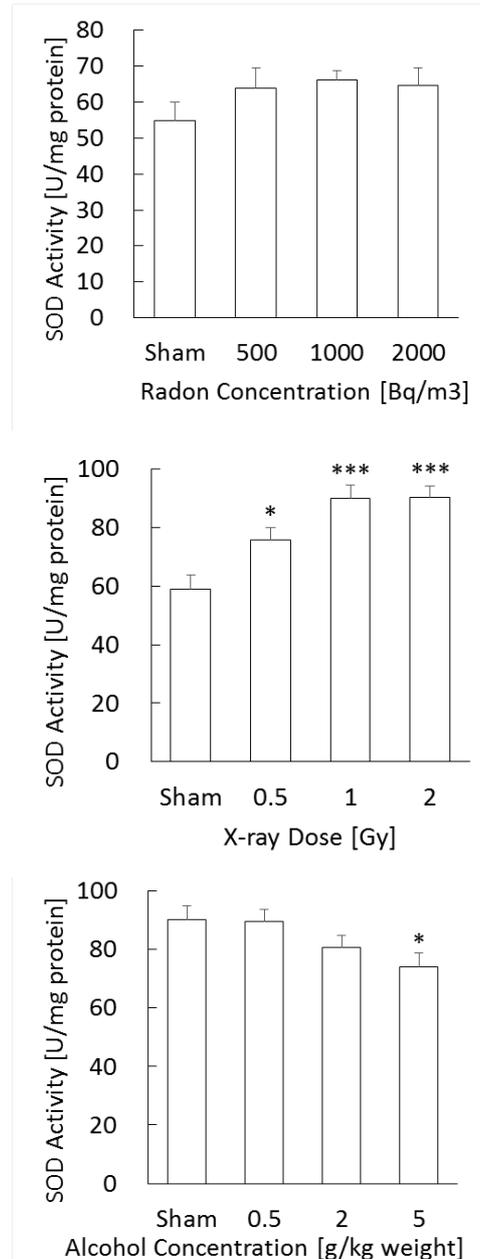


図 2 ラドン吸入，X 線照射，アルコール投与による肝臓中の SOD 活性の変化特性。
n=6。*P < 0.05, ***P < 0.001 vs sham。

(2) 自己組織化マップによる視覚的評価

自己組織化マップでは、データを学習し、似通った特徴のデータを近くに配置する。自己組織化マップでは、多次元データを二次元または三次元に圧縮しているため、見た目の距離ではわからないデータの隔たりもある。一般に、データ間の隔たり (壁) は、マップの濃淡で表現される。本研究では、壁を濃くするのはではなく、壁を隔てて肝障害を示した部分に濃い色を付けた。

実験1では、二次元マップでアルコールの影響を評価し、左側にアルコール5.0g/kg群のデータが配置され、右側に Sham 群が配置された。アルコール5.0g/kg群は、他の群のデータとの間にデータの隔たりがあり、肝障害を示していると予想できた(図3の黒部分)。そのマップ上にラドン群とX線群のデータを配置した結果、ラドン群もX線群もアルコール0.5g/kg群周辺に配置された(図3)。

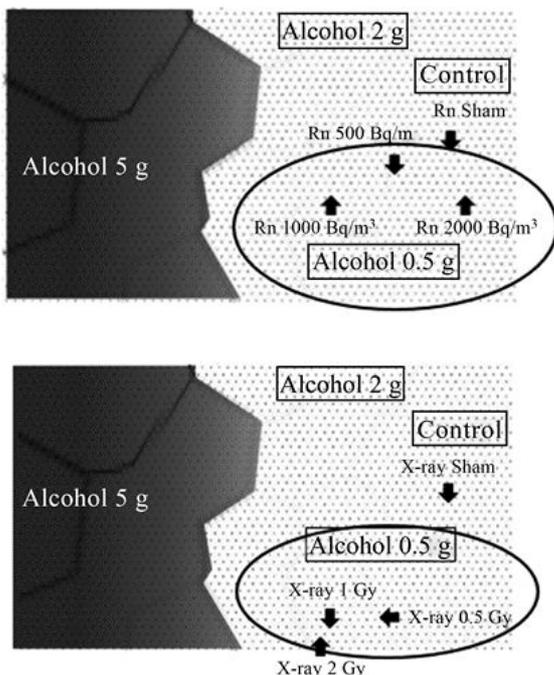


図3 自己組織化マップを用いたアルコール投与と放射線被曝(上:ラドン吸入,下:X線照射)の肝臓への影響評価出力マップ。

実験2では、三次元(球)の自己組織化マップで全データの関係性を学習した結果、実験1と同様に、アルコール5.0g/kg群のみ離れて配置され、肝障害を示していることが予想できた(図4)。

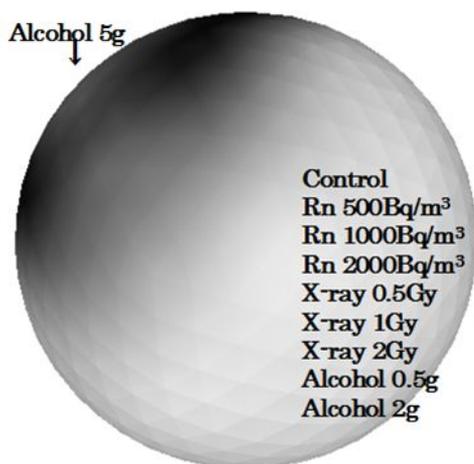


図4 球面自己組織化マップを用いたラドン吸入,X線照射,アルコール投与による肝臓への影響評価出力マップ。

さらに、マップ上でのデータの距離からクラスタリングを行った。その結果、大きな分類ではアルコールとX線は完全に分かれた。さらに詳細な分類を行うと、アルコール2.0g/kg群と5.0g/kg群が違うクラスとなり、残りはほとんどControlと変わらないことがわかった(図5)。

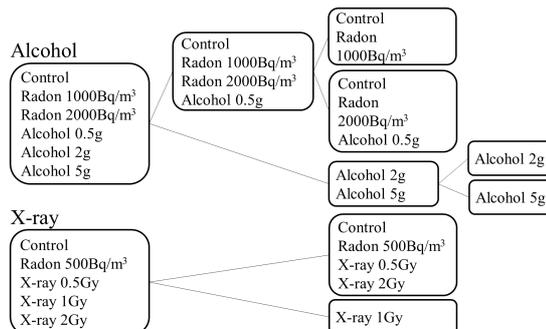


図5 自己組織化マップを用いたラドン吸入,X線照射,アルコール投与による肝臓への影響評価クラスタリングの結果。

以上のことから、本実験条件下でのラドン吸入やX線照射での肝臓への影響は、アルコール0.5g/kgに相当し、それはControlに近い肝臓へのダメージは受けていない状態であると言える。また、クラスタリングにより、X線群は大きな分類でも違うものと判別されたのは、抗酸化機能亢進を示していると言える。以上のことから、自己組織化マップを用い、肝機能と抗酸化機能の変化から、酸化ストレスに注目して肝臓への影響を表現できることが分かり、異なる因子による健康影響を総合的に評価することができた。

(3) まとめ

本研究では、低線量放射線の健康影響を公衆に理解し易い研究データで示すことを目的とし、放射線の健康影響を、生活に密着した環境因子で放射線同様に酸化ストレス源の一つであるアルコール摂取と比較検討した。その結果、5.0g/kg体重のアルコール投与では肝障害が起きることを確認し、本実験条件下の低線量放射線被曝では肝臓にほとんど影響のないアルコール0.5g/kg体重相当であることを明らかにした。自己組織化マップは健康診断や肝疾患自動診断等には応用されているが、本研究のように、多種多様な因子による酸化ストレスに着目した肝臓への健康影響評価は新規性が高い。また、低線量放射線の適応応答の機構は複雑で未解明の部分が多い。ラドン吸入による内部被曝とX線照射による外部被曝の抗酸化機能の比較は価値のあるものであったと言える。

今後、低線量放射線の適応応答の機構解明と共に、健康不安払拭のため、公衆に理解し易い科学的データの獲得を進めていく。

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1件)

Norie Kanzaki, Takahiro Kataoka, Reo Etani, Kaori Sasaoka, Akihiro Kanagawa, Kiyonori Yamaoka. Analysis of liver damage from radon, X-ray, or alcohol treatments in mice using a self-organizing map. Journal of Radiation Research, 査読有, 58, 2017, 33-40, DOI: 10.1093/jrr/rrw083.

[学会発表](計11件)

神崎訓枝, 片岡隆浩, 恵谷玲央, 笹岡香織, 小橋祐介, 金川明弘, 山岡聖典. 球面 SOM を用いたラドン吸入と X 線照射による抗酸化機能への影響の比較評価. 日本放射線影響学会第 59 回大会. 2016.10.26-28, JMS アステールプラザ 広島県・広島市)

神崎訓枝, 片岡隆浩, 恵谷玲央, 笹岡香織, 金川明弘, 山岡聖典. 自己組織化マップの機械学習を用いた放射線とアルコールのマウス肝臓への酸化ストレス評価法. 低線量放射線健康影響研究会 2016. 2016.9.21, 岡山大学(岡山県・岡山市)

神崎訓枝, 片岡隆浩, 笹岡香織, 小橋祐介, 山岡聖典. ラドン吸入と X 線照射によるマウス肝臓への酸化ストレスの比較検討. 日本原子力学会中国・四国支部第 10 回研究発表会. 2016.9.16, ホテルニューセンチュリー 坂出(香川県・坂出市)

神崎訓枝, 片岡隆浩, 恵谷玲央, 笹岡香織, 小橋祐介, 山岡聖典. マウス肝機能に及ぼす低線量放射線とアルコールの作用に関する比較検討. 2016.9.7-9, 久留米シティプラザ(福岡県・久留米市)

神崎訓枝, 片岡隆浩, 恵谷玲央, 笹岡香織, 小橋祐介, 金川明弘, 山岡聖典. 球面 SOM を用いた低線量放射線と低用量アルコールによる酸化ストレスの比較検討. 第 69 回日本酸化ストレス学会学術集会. 2016.8.30-31, 仙台国際センター(宮城県・仙台市)

神崎訓枝, 片岡隆浩, 恵谷玲央, 笹岡香織, 金川明弘, 山岡聖典. 自己組織化マップを用いた低線量放射線によるマウス肝臓への酸化ストレスの評価. 第 53 回アイソトープ・放射線研究発表会. 2016.7.6-8, 東京大学(東京都・文京区)

神崎訓枝, 片岡隆浩, 恵谷玲央, 笹岡香織, 金川明弘, 山岡聖典. 自己組織化マ

ップを用いたラドン吸入による微量酸化ストレスの各種評価. 日本原子力学会 2016 年春の年会. 2016.3.26-28, 東北大学(宮城県・仙台市)

神崎訓枝, 片岡隆浩, 恵谷玲央, 笹岡香織, 金川明弘, 山岡聖典. 自己組織化マップを用いたラドン吸入による肝臓への酸化ストレスの評価. 放射線ワークショップ - 未来に繋ぐ放射線研究. 2015.10.16-17, 富山大学(富山県富山市)

神崎訓枝, 片岡隆浩, 恵谷玲央, 笹岡香織, 金川明弘, 山岡聖典. 自己組織化マップによるラドン吸入とアルコール摂取の酸化ストレスの比較. 日本原子力学会中国・四国支部第 9 回研究発表会. 2015-9.10, A N A クラウンプラザホテル 宇部(山口県・宇部市)

神崎訓枝, 片岡隆浩, 恵谷玲央, 笹岡香織, 堀江駿介, 山岡聖典. ラドン吸入とアルコール摂取による酸化ストレスの比較. 平成 27 年度 若手放射線生物学研究会専門研究会. 2015.8.8-9, 東京医科歯科大学(東京都・文京区)

Norie Kanzaki, Takahiro Kataoka, Reo Etani, Kaori Sasaoka, Shunsuke Horie, Kiyonori Yamaoka. Comparative study on oxidative stress effects induced by radon inhalation with alcohol administration in mouse liver. 15 th International Congress of Radiation Research. 2015.5.25-29. Kyoto International Conference Center(京都府・京都市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山岡聖典(YAMAOKA Kiyonori)
岡山大学・大学院保健学研究科・教授
研究者番号: 00314683

(2) 研究分担者

片岡隆浩(KATAOKA Takahiro)
岡山大学・大学院保健学研究科・助教
研究者番号: 40509832