

福島県放射線医学研究開発事業補助金  
低線量域における被ばく線量モニター開発事業  
実績報告書

平成27年3月

公立大学法人福島県立医科大学

国立大学法人広島大学

1. 補助金名

福島県放射線医学研究開発事業補助金

2. 事業名

被ばく線量モニター開発事業

3. 事業期間

平成24年4月1日～平成27年3月31日

4. 事業の概要、目的

福島県は、東京電力福島第一原子力で発生した原子力災害により、広く県土及び海域が放射能に汚染され、多くの県民がふるさとを離れ、県内はもとより、全国各地でつらい避難生活を余儀なくされているのみならず、県内に残る県民が不安な日常生活を強いられている。特に被ばくによる健康への影響の不安が大きな課題となっており、既に全県民を対象に県民健康調査を開始しているが、調査対象が全県民約200万人と広範囲であり、また、調査期間が数十年と長期間にわたることから、被ばく線量を迅速かつ高精度に測定することが必要である。

現在の手法では、熟練した専門家が肉眼で判定を行っているため、迅速かつ高精度に測定ができ、多人数検査に対応可能な被ばく線量モニターのシステム開発を行う。これは、県民健康調査における行動調査による外部被ばく線量や県が実施する内部被ばく線量を補完するシステムであり、個人線量計をつけていない一般県民の、内部・外部被ばくを含めたトータルの被ばく線量を測定できるシステムである。

5. 開発担当者

(福島県立医科大学)

副学長 阿部 正文  
教授 吉田 光明  
教授 坂井 晃  
教授 大津留晶  
准教授 津山 尚宏  
助教 片淵 淳

(広島大学)

副学長 神谷 研二  
教授 稲葉 俊哉  
教授 田代 聡  
教授 松浦 伸也  
助教 河合 秀彦  
助教 飯塚 大輔

6. 低線量域における被ばく線量モニター開発委員会

(1) 設置目的

低線量域における被ばく線量モニターの開発に関する必要事項を審議するた

め、平成24年7月に委員会を設置。全体計画の策定や、開発および研究の進捗状況の確認等を行う。

## (2) 委員名簿

福島県立医科大学 副学長	阿部 正文
福島県立医科大学 教授	坂井 晃
福島県立医科大学 教授	大津留 晶
広島大学 副学長	神谷 研二
広島大学原爆放射線医科学研究所 所長	稲葉 俊哉
放射線影響研究所 遺伝学部長	児玉 喜明
弘前大学被ばく医療総合研究所 教授	吉田 光明
環境科学技術研究所 相談役	田中 公夫
福島県地域医療課 課長	伊藤 直樹

## 7. 事業の計画

### (1) 当初計画

#### ①福島県立医科大学

- ・サンプル採取法、検体調整・作成システムの確立
- ・県民健康調査とリンクした適応判定システムの確立
- ・被ばく線量モニター開発とシステム開発方針の策定・助言

#### ②広島大学

- ・被ばく線量モニターの開発を支援
- ・自動化解析ソフトの開発
- ・校正作業

### (2) 変更計画 (H24.12.5～)

#### ①福島県立医科大学

- ・サンプル採取法、検体調整・作成システムの確立
- ・県民健康管理調査とリンクした適応判定システムの確立
- ・システム開発方針の策定と被ばく線量モニター開発
- ・ユーザーインターフェースの作成
- ・「フィッシュ法」と「ギムザ法」が実施できるシステムの併設
- ・培養ロボットの開発

#### ②広島大学

- ・被ばく線量モニターの開発を支援
- ・自動化解析ソフトの開発を支援
- ・校正作業

(3) 変更計画を踏まえた研究実施計画 (H25.7.3)

- ①培養ロボット開発 (培養ロボット (リンパ球分離装置) の開発) : 福島医大
- ②細胞固定装置・自動標本作製装置の開発と習熟 : 福島医大
- ③自動解析技術開発(PNA、ギムザ、FISH 法による自動解析) : 福島医大・広島大
- ④校正作業 (照射実験、サンプル採取) : 広島大
- ⑤開発全般 システム開発方針の策定 : 開発委員会

参考資料 1. 事業の概要

低線量域における被ばく線量モニターの開発

福島県立医科大学

(リンパ球分離)  
培養ロボットにより、採取した血液からリンパ球のみ分離し、培養液に入れる段階までの過程をすべて全自動化処理する。

(細胞固定)  
培養したリンパ球を低線量処理した後、メタノールや酢酸固定液を加え細胞を固定する。

(自動標本作製)  
固定したリンパ球から顕微鏡観察用のスライド標本を自動作成する。

(自動解析技術開発)  
ギムザ染色による解析の自動化により短時間で大量のサンプル処理が可能。動原体を染め分けるFISH法やPNA蛍光染色法により高感度な線量評価が広い領域において可能。低線量域では大量の細胞数を解析するため、全自動画像解析ソフトが不可欠。



技術支援

広島大学

(校正作業)  
放射線量は少量と異常の相関を表す標準曲線を作成するため、広島大学で開発したFISH法を用いた未病リンパ球に低線量域の放射線照射を行う。



事業 (H24~26年度) 成果

**放射線影響イメージングシステム**  
高速かつ高精度に染色体の自動判定が可能となる  
世界随一のシステムを確立

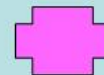
リンパ球の培養ロボット開発 :  
細胞培養→標本作成→染色体解析の一連作業工程を自動化し、染色体異常の解析を効率化した。

染色体異常自動検出ソフトの開発 :  
二動原体染色体解析や転座型染色体解析の推進、ギムザ染色解析ソフトの精度向上を実施。

目標としてきた技術性能とハード及びソフト整備は  
事業期間内に完了。

福島復興支援に貢献

広島大学



福島県立医科大学

開発したモニターの精度向上及び低線量研究の成果の還元

染色体解析を行うためには、前処理として血液中のリンパ球から染色体を標本化することが必要であり、その工程は主に“培養”→“細胞固定”→“標本作製”の三段階に分かれる。本事業では、この前処理から染色体解析までの一連の過程を自動化し、低線量放射線の線量評価を迅速かつ高精度に行えるよう、システムの開発を行った。

## 参考資料 2. 開発委員会での検討経過

### 低線量域における被ばく線量モニターの開発

#### 当初計画の共通理解

第1回開発委員会(24年8月1日)

- ・福島県民健康管理調査での線量評価をサポートする方法とし被ばく線量モニターを開発することを了承。
  - ・生物学的線量評価法としては「PNA蛍光染色法」を開発。
  - ・委員からの提案
- 1) 「PNA蛍光染色法」を補完する評価法として「フィッシュ法」と「ギムザ法」を併設する。
  - 2) サンプルを準備する過程を自動化し効率化をあげるため「培養ロボット」の導入。

#### 計画の再検討

第2回開発委員会(24年12月5日)

##### 当初計画

(福島県立医科大学)  
サンプル採取法、検体調整・作成システムの確立  
県民健康調査とリンクした適応判定システムの確立  
被ばく線量モニター開発とシステム開発方針の策定・助言  
ユーザーインターフェースの助言  
(広島大学)  
被ばく線量モニターの開発を支援  
自動解析ソフトの開発  
校正作業

##### 変更計画

(福島県立医科大学)  
サンプル採取法、検体調整・作成システムの確立  
県民健康管理調査とリンクした適応判定システムの確立  
システム開発方針の策定と被ばく線量モニター開発  
ユーザーインターフェースの作成  
「フィッシュ法」と「ギムザ法」が実施できるシステムを併設する  
**培養ロボットの開発**  
(広島大学)  
被ばく線量モニターの開発を支援  
自動解析ソフトの開発を支援  
校正作業

#### 枠組みの再整理

第3回開発委員会(25年7月3日)

##### 開発事業の枠組みを再整理

1. 培養ロボット開発 (培養ロボット(リンパ球分離装置)の開発) : 福島医大
2. 細胞固定装置・自動標本作製装置の開発と習熟 : 福島医大
3. 自動解析技術開発 (PNA, ギムザ, FISH法による自動解析) : 福島医大・広島大
4. 校正作業 (照射実験, サンプル採取) : 広島大
5. 開発全般 システム開発方針の策定 : 開発委員会

#### 全体計画の確定

第4回開発委員会(26年3月26日)

平成26年度(最終年度)までの事業計画の確定。  
分離培養装置試作機開発、ギムザ染色解析ソフト開発、イメージングフローサイトメトリーの導入。

#### 課題の検討

第5回開発委員会(26年12月3日)

開発事業終了後のフォローアップについて検討。  
共同研究の継続について審議。

#### 事業のまとめ

第6回開発委員会(27年3月11日)

事業報告及び決算報告、今後の共同研究について審議。

## 8. 事業の実施状況、事業から得られる成果

### (1) リンパ球の培養ロボットの開発

低線量放射線の人体への影響を調べるためには、被ばく線量を推定する必要がある。とりわけ染色体異常頻度から被ばく線量を推定する生物学的線量評価法では、多くの人の検体において、一人あたり多数の細胞について染色体異常の有無を調べる必要がある。

現状では、形態学的に染色体異常を解析できる人材が国際的に激減しており、このような解析業務を遂行するためには、細胞の培養から標本作成、さらには染色体解析まで全ての過程について、ロボット等を使用した自動化が急務である。これら一連の作業工程を図1に示す。

本事業では、採取された末梢血からリンパ球を分離し、炭酸ガスインキュベーター内での培養を開始する前段階までの作業を、自動的に行うロボットの開発を行った。

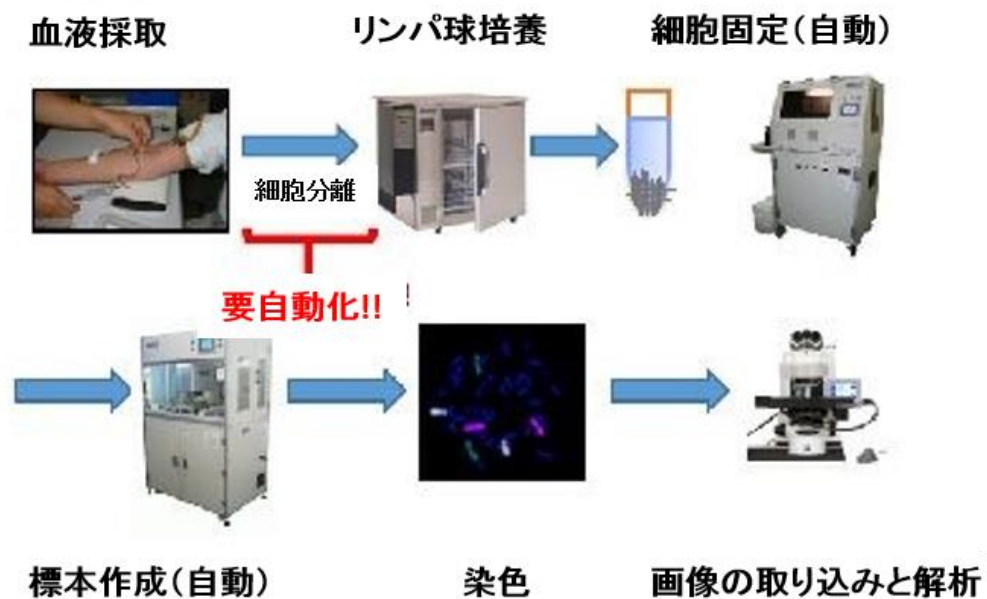


図1. 染色体解析の作業過程

平成25年度からロボットの開発に着手し、平成26年10月に概ね完成したため動作確認を行った。その結果、ロボットが行う末梢血からリンパ球を分離する一連の作業過程は、人間が行う作業と同じ動作を行うことを確認したが、以下のような細かな作業プロセスにおいて修正点が見つかった。

- ①培養液を注入するチューブの無菌性が確保されていない
- ②遠心後の上清液を排出する金属管の消毒と無菌性が確保されていない



- ③遠心分離後の細胞を収集するためのピペッティングが十分ではない  
(ピペッティングが弱いと十分にリンパ球を回収できない可能性がある)
- ④ロボットの動作に無駄な動作が多く、処理時間の短縮化が確保されていない。

これらの問題点に関しては、その後改良が加えられ、チューブや金属管の無菌性の確保には過酢酸製剤による洗浄を導入し、細菌検査において無菌性の確保が可能となった。また、遠心分離後、細胞収集を行うためのピペッティングについては、ピペットの高さ、ピペッティングの強さと回数に改良を加えることによって、人間が手動で行う操作以上の細胞回収率を確保することができた。さらに、ロボットの動作についてもスピードアップが図られ、人間が手動で24検体を処理すると2時間30分～3時間要するが、同様の処理をロボットが行うことで、処理時間を2時間前後まで短縮することが可能となった。培養ロボット（図2）は平成27年3月5日に納品され、今後は染色体異常を指標とした低線量域放射線の人体影響に関する研究に活用していく。



図2. 分離培養装置

## (2) 細胞固定装置・自動標本作製装置の導入整備と実用化検討

低線量域放射線の影響を解析するためには、多数の検体を対象として、多数の細胞を解析しなければならない。そのためには、解析の一連の過程を自動化する必要がある。そこで、細胞固定・標本作製の過程を自動化する機器を整備し（図3）、末梢血液サンプルを分離培養後、この機器を用いてカルノア固定を行い、ギムザ染色と FISH 解析用の標本作製した。多数のサンプル

ルから短時間に人手をかけずに標本の作製が可能となり、機器の整備後は、CT 検査前後での二動原体染色体解析研究に使用した。

日常よく問題となる低線量被ばくに医療被ばくがあり、その中でも CT 検査による被ばく線量は、1 回の検査での被ばく線量が高いことが知られており、我々の研究では、成人 10 人の解析で 1 回の CT 検査で 5.78~60.27mSv（平均 24.24mSv）であった。また小児では CT 検査を受けた患者において数年後から白血病と脳腫瘍が増加したという報告があり、1 回の CT 検査前後での二動原体染色体形成数の解析は、100mSv 以下の低線量被ばくによる人体への影響の解析にとって必要である。

そこで、血液内科、呼吸器内科、呼吸器外科との共同で 1 回の CT 検査前後での二動原体染色体解析を行い、その結果、解析した 10 人の患者（成人）全員に二動原体染色体の増加を認めた。この結果は、100mSv 以下の低線量被ばくにおいて染色体の 2 本鎖切断が生じていることを示唆するものであり、今後さらに患者数を増やしながらか、定期的な CT 検査により二動原体染色体が増加していくのか追加調査を行い、研究を継続していく。



図3. 細胞固定装置



図3. 自動標本作製装置



### (3) 染色体異常自動検出ソフトの開発

細胞が放射線によって照射されると、核酸物質である DNA に切断が生じ、修復過程を経た後に、誤って異なる染色体と再結合することによって染色体異常が形成される (図4)。

高線量被ばくでは、「1000 細胞、あるいは 100 個の二動原体染色体が検出される細胞数を解析すること」と国際的に決められている。現状の線量評価のための染色体解析では、ギムザ染色後、顕微鏡下で染色体像を認識し、ピックアップする自動解析のソフトウェアが既にある。

また、二動原体染色体を自動的に検出するソフトウェアも開発・販売されているが、その検出効率は人間と比較して約 60%~70%と低く、正確な被ばく線量の評価には支障をきす。従って、実際の被ばく事故においては顕微鏡下あるいはコンピューターに取り込んだ染色体画像をモニター上で 1 細胞、1 細胞を解析する方法が取られている。この作業自体は洗練された染色体解析の能力を有する人材と多くの時間を有する。

一方、100mSv 以下の低線量被ばくでは、1 症例あたり 2000~5000 細胞近い数を解析しなければ正確な線量が推定できない。このような多数の細胞を解析するためには膨大な時間と労力が必要となる。

そこで、本事業では、ギムザ染色された染色体の中から、二動原体染色体を効率よく、しかも多数の細胞から短時間で検出するソフトウェアの開発を行った。

### (4) 校正作業

染色体解析によって直接得られる数値は二動原体染色体の頻度 (dic) であるので、dic を被ばく線量に変換するための係数を求める必要がある。また、ひとたび係数が決まっても、解析手技や解析者の違いなどによる基準のブレが生じるため、定めた係数が適正であるかどうかの検定が常時必要となる。

これらの作業を「校正作業」といい、ヒトの血液の体外照射とマウスの全身照射で行った。

ヒトでは、広島大学に設置された低線量率放射線照射装置を用いて、採血された血液に線量率おおむね 25mSv/分の線量率で、10,20,50,100,200,500,1000mSv 照射し、短期培養後作製したカルノア液を福島医大に送付した。福島医大では、送付されたカルノア液を、ランダマイズ処理によって照射線量が不明な状態で染色体標本を作製した。現在、ギムザ標本の解析を進めて



図4. 放射線により形成された染色体異常  
矢印(大):二動原体染色体  
矢印(小):染色体断片

おり、1,2,4-painting 標本による転座解析についても準備を進めている。

また、採取血液の体外照射により得られた結果が、生体における放射線照射を反映しているかどうか検討するために、マウスに高線量率放射線(0.9Gy/min)を2Gyと4Gy全身照射および低線量率放射線(5,20,100mGy/day、1日22時間照射)を28、49、98日連続照射した。脾臓Tリンパ球の染色体分析をPNA-FISH法で行ったところ、おおむね文献などにより想定されるdicを得た(図5)(図6)。

今後校正作業を繰り返し、係数の決定や精度向上などの作業を継続する。

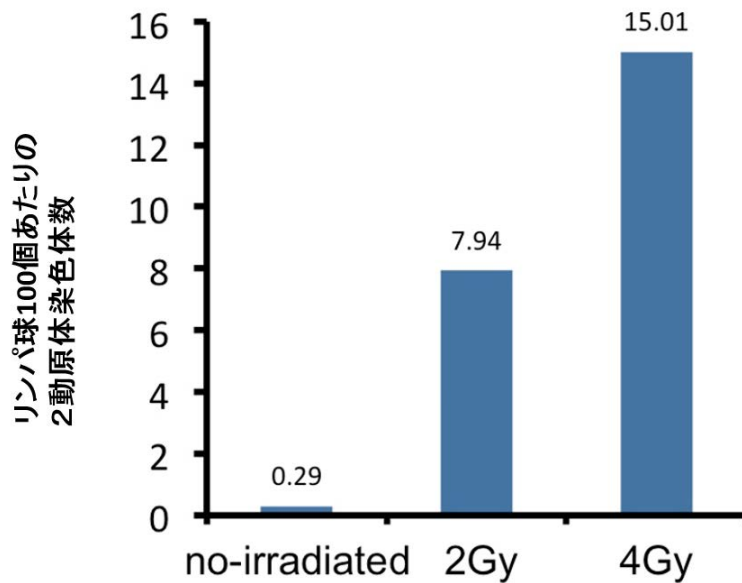


図5. マウスに高線量率放射線を全身照射した結果

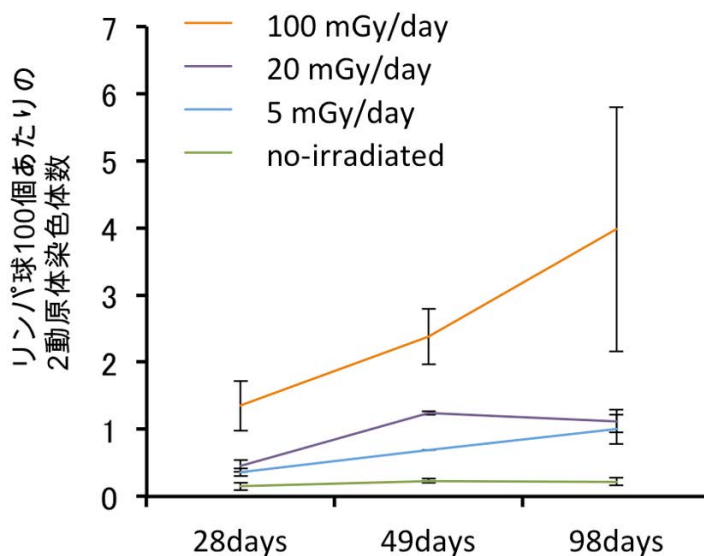


図6. マウスに低線量率放射線を連続照射した結果

## 9. 継続課題

事業期間内に目標としてきた技術開発と、ハード及びソフト整備は完了したが、福島県民の安全と健康を守るという観点から、低線量研究の成果を還元し、さらに、開発したモニターの精度を向上させていくことが必要である。

## 10. 事業終了後の活用について

上述したように、100mSv を超える放射線の急性被ばくにおける線量評価に関しては、国際標準規約において「1000 細胞ないしは 100 個の二動原体染色体が検出される細胞数まで解析する」という事が示されている。

一方 100mSv 未満の低線量域の放射線による被ばくでは、このレベルでの線量評価は極めて難しい。しかし、解析細胞数を 2000～5000 細胞のレベルまで増加させることによって数 mSv レベルまでの推定が数字上は可能となることだが、実験的に、また、1999 年の東海村 JCO 事故が発生した工場の周辺住民における染色体解析で示されている。

このような多数の細胞の解析を、顕微鏡下あるいはコンピューターのモニター上で（人間の眼で）解析することは膨大な時間と労力を要すること、さらに、染色体異常の解析には熟練の技術や能力が要求されることから、現実的には低線量域の放射線被ばく線量評価は非常に困難とされている。しかし、もし、細胞培養から染色体解析、線量評価が一連のシステムとして自動化され、多数の検体処理、多数の細胞の解析が比較的短時間で可能となれば低線量域の放射線の線量推定が可能となり、住民の健康管理の一助として貢献することが出来ると思われる。

そこで、本事業では、これまで自動化されていなかったリンパ球細胞の末梢血からの分離過程を自動化し、さらに現存する二動原体染色体の自動検出ソフトを超えた能力を有するソフトの開発を実施した。

今後は、本事業において整備した自動モニタリングシステムを活用した染色体異常の解析から被ばく線量を推定し、福島県の空間線量率から算出される年間被ばく線量を基に、居住期間によって推定される積算被ばく線量とを比較することによって、低線量放射線の人体影響を調査の可能性を検討する。また、福島県民とくに事故当時、原発の支援に入った作業員や現在まで廃炉作業に携わっている作業員、また、事故現場に近い地域で避難が遅れた住民、放出された放射性物質で高汚染地域に避難した人たち、さらには年齢の若い子供たちの健康管理を継続的に実施することが期待される。