

## 【資料】

# 電離放射線による細胞への影響評価 -CELET course 2023-欧州研修会報告

山本慶輔\*<sup>1</sup> 千葉満\*<sup>1,2</sup> 門前暁\*<sup>2,3</sup>

(2024年1月26日受付, 2024年2月11日受理)

**要旨:** 2023年11月13日から11月24日にかけてスウェーデンのストックホルム大学にある放射線防護研究センターにて、様々な電離放射線による細胞毒性や遺伝毒性といった放射線生物学を学ぶ研修会(Cellular and genotoxic effects of high and low LET ionising radiation - introduction to radiation biology; CELET) course 2023が開催された。本研修会は欧州地域におけるプロジェクトの一貫として2週間のスケジュールで構成されており、電離放射線による細胞への影響を理解するために欧州連合圏の大学院生、若手研究者とストックホルム大学の大学院生を対象に行われた。研修内容は電離放射線照射による細胞への影響についてで、講義と実習が実施された。講義は、電離放射線や細胞生物学の専門家やストックホルム大学の教員及び研究員が対面またはzoomにて行われた。実習は主催者である Andrzej Wojcik 教授の研究グループの方々が中心に実施され、その研修の最後に発表報告会が開催された。本論文では研修で実施された講義・実習内容を中心に簡単に紹介したい。

**キーワード:** 電離放射線, スウェーデン, 細胞障害, 被ばく線量評価

## I. はじめに

筆者である山本慶輔は2023年11月13日から24日までスウェーデン王国のストックホルム大学にて開催された(図1)、様々な電離放射線による細胞毒性や遺伝毒性といった放射線生物学を学ぶ研修会(Cellular and genotoxic effects of high and low LET ionising radiation - introduction to radiation biology; CELET)に参加した。本研修会は欧州地域における RadoNorm プロジェクトの一貫として2週間のスケジュールで構成されており、今回で2年目となる。このような放射線生物学を欧州地域で大規模に学ぶ研修プロジェクトは極めて稀であり、研修参加者はヨーロッパの若手研究者もしくは大学院生であり、ストックホルム大学の学生及び研究員を合わせ合計18人が参加した。私が所属している弘前大学大学院保健学研究科はストックホルム大学の放射線防護研究センターと部局間協定を締結し相互協力関係にあることから、欧州以外であるものの本研修へ参加する機会をいただいた。研修内容は講義と実習に分かれており、詳細を表1に示す。詳しい講義の内容や日程については後ほど述べる。筆者は海外における短期研修はおろか、海外に一人で行くことですら初めてであったため様々な緊

張と期待が心に混じえながら参加した。筆者が本研修で経験したことを、本研修の講義、実習、イベントの3カテゴリに区分して紹介する。



## II. 研修の講義

講義は第1週目の午前中に行われ、1日180分の講義があり、各講義ののちに質疑応答の時間が設けられた。各講義の講師と講義内容を以下に紹介する。

**1. Prof. Christian Johannes (デュースブルクエッセン大学, ドイツ)による講義:** 放射線誘導染色体異常が大きなテーマの講義であった。電離放射線の基礎から電離照射線処理の染色体前処理, 染色体異常の検出, 発生機序, スコアリング, 生物学的効果比(RBE: Relative biological effectiveness), 線量効果曲線, 細胞間分布に

\*1 弘前大学大学院保健学研究科生体検査科学領域 Department of bioscience and laboratory medicine, Hirosaki university Graduate school of Health Sciences,

〒036-8564 青森県弘前市本町 66-1 TEL:0172-39-5965  
66-1 Hon-cho, Hirosaki, Aomori, 036-8564, Japan

\*2 弘前大学 生体応答科学研究センター Research Centre for Biomedical Sciences, Hirosaki University,

〒036-8564 青森県弘前市本町 66-1 TEL:0172-33-5111  
66-1, Honcho, Hirosaki, Aomori, 036-8564, Japan

\*3 弘前大学大学院保健学研究科放射線技術科学領域 Department of Radiation Science, Hirosaki university Graduate school of Health Sciences,

〒036-8564 青森県弘前市本町 66-1 TEL:0172-39-5959  
66-1 Hon-cho, Hirosaki, Aomori, 036-8564, Japan

Corresponding Author: Satoru Monzen, monzens@hirosaki-u.ac.jp

関する講義であった。基礎から教えていただけるため、放射線学が初心者の筆者もとてもよく理解できた。またのちの実習で行う FISH (Fluorescence in situ Hybridization) 法についても詳しい説明があり、Giemsa 染色ではわからなかった転座などがわかる技術を理解するのに重要な講義であった。

表 1. CELET course 2023 の 1 週目日程表

Date	Room	Event	Lecturer
Mo 13/11	E306	09:00 – 10:30 Chromosomal aberrations (ZOOM)	Christian Johannes
	E306	10:45 – 12:15 DNA damage and repair (ZOOM)	Penny Jeggo
	E515	14:00 – 17:00 Dosimetry exercise – group 1	Andrzej
	E224	14:00 – 17:00 GammaH2AX exercise – group 2	Nadia
	E224	14:00 – 17:00 Scoring – group 3 and group 4	Prabodha/Yanzi
Tue 14/11	P232	09:00 – 10:30 Factors which influence cellular radiosensitivity	Lovisa Lundholm
	P232	10:45 – 12:15 Bystander effects of radiation (ZOOM)	Munira Kadhim
	E515	14:00 – 17:00 Dosimetry exercise – group 3	Andrzej
	E224	14:00 – 17:00 GammaH2AX exercise – group 4	Nadia
	E224	14:00 – 17:00 Scoring – group 1 and group 2	Prabodha/Yanzi
Wed 15/11	E306	09:00 – 10:30 Radiation-induced micronuclei (ZOOM)	Anne Vral
	E306	10:45 – 12:15 Radiation-induced gammaH2AX foci	Harry Scherthan
	E515	14:00 – 17:00 Dosimetry exercise – group 2	Andrzej
	E224	14:00 – 17:00 GammaH2AX exercise – group 1	Nadia/Mostafa/Sergey
	E224	14:00 – 17:00 Scoring – group 3 and group 4	Yanzi
Thu 16/11	E306	09:00 – 10:30 Statistical analyses of experimental results from low and high throughput approaches in radiation research (ZOOM)	Joanna Polanska
	E306	10:45 – 12:15 Combined exposures of radiation and other stressors (ZOOM)	Helga Stopper
	E515	14:00 – 17:00 Dosimetry exercise – group 4	Andrzej
	E224	14:00 – 17:00 GammaH2AX exercise – group 3	Nadia/Mostafa/Sergey
	E224	14:00 – 17:00 Scoring – group 1 and group 2	Yanzi
Fri 17/11	E306	09:00 – 10:30 The dose concept and Monte Carlo methods in radiation biology (ZOOM)	Beata Brzozowska
	E306	10:45 – 12:15 Radiation effects on the immune system and the use of radon to treat autoimmune diseases	Serge Candeias
	E518	13:00 – 17:00 Harvesting cells for aberrations – group 1	Zuzana
	E518	13:00 – 17:00 FISH exercise – group 2	Prabodha
	E224	13:00 – 17:00 Scoring – group 3 and group 4	Yanzi/Andrzej
Sat 18/11	E512	Trip to Uppsala	
Sun 19/11		18:00 Dinner at SU – social room on level E5	
		Sunday – free. On Monday exercises start at 09:00.	

表 2. CELET course 2023 の 2 週目日程表

Date	Room	Event	Lecturer
Mo 20/11	E518	09:00 – 13:00 Harvesting cells for aberrations – group 3	Zuzana
	E518	09:00 – 13:00 FISH exercise – group 4	Prabodha
	E224	09:00 – 13:00 Scoring – group 1 and group 2	Yanzi
	E314	14:00 – 17:00 gH2AX analysis and scoring – all groups	Nadia/Mostafa/Sergey
Tue 21/11	E518	09:00 – 13:00 Harvesting cells for aberrations – group 2	Zuzana
	E518	09:00 – 13:00 FISH exercise – group 1	Prabodha
	E224	09:00 – 13:00 Scoring – group 3 and group 4	Yanzi
	E224	14:00 – 17:00 Scoring – all groups	Yanzi
We 22/11	E518	09:00 – 13:00 Harvesting cells for aberrations – Group 4	Zuzana
	E518	09:00 – 13:00 FISH exercise – group 3	Prabodha
	E224	09:00 – 13:00 Scoring – group 1 and group 2	Yanzi
	E224	14:00 – 17:00 Scoring – all groups	Yanzi, Andrzej
	E5	17:00 – Swedish food tasting	
Thu 23/11 Thu 23/11	E224 E224	09:30 – 12:00 Scoring and preparing presentations – all groups	Yanzi, Nadia, Prabodha, Andrzej
		13:00 – 17:00 Scoring and preparing presentations – all groups	Yanzi, Nadia, Prabodha
Fri 24/11	P224	09:30 – 12:00 Presentation of results, discussion, all groups	All

2. Prof. Penny Jeggo (サセックス大学, グレートブリテン及び北アイルランド連合王国): 放射線による DNA 損傷・修復と放射線感受性障害がテーマであった。この講義では, DNA 二重らせん切断(DSBs : DNA strands breaks)の生成方法や修復機能, またそれらに関する細胞周期の変化やアポトーシス誘導など個々の酵素とその構造から分子の機能まで深く解説していただいた。放射線関連の講義でタンパク質の立体構造が出てくるとは思っておらず, 分子生物学というよりは生化学に近いような内容であった。また, 講義の最後に講義内容の問題形式のディスカッションも用意されていて少し驚いたが, とても身になる講義であった。

3. Assoc. Prof. Lovisa Lundholm (ストックホルム大学, スウェーデン)による講義: 細胞の放射線感受性に影響する因子がテーマの講義であった。細胞が様々な種類の電離放射線に晒された時, 様々な因子が細胞の放射線感受性に関連していることを講義していただいた。その放射線感受性に関連する因子には物理的(線量, 温度など), 化学的(酸素, 放射線増感剤, 放射線防護剤), 生物学的(生体レベル, 細胞レベルなど), 技術的(放射線治療の照射精度)があり, それらの因子について実際の論文に基づいた解説をしていただいた。筆者は臨床検査技師として病院で働いているため実際の医療現場での診断, 治療による被曝の線

量なども解説していただいたため非常にわかりやすく実感が湧いた。

**4. Prof. Munira Kadhim (オックスフォードブルックス大学, イギリス)による講義:** 電離放射線のバイスタンダー効果がテーマであった。バイスタンダー効果とは直接細胞に電離放射線を照射すると、照射されていない近傍の細胞も影響を受けることである。このバイスタンダー効果を Prof. Munira Kadhim の研究グループでは細胞外小胞に着目して実際に先生が書いた論文を交えて最新の知見を紹介した。これらの最新の知見によるとバイスタンダー効果は電離放射線が照射した細胞から放出される細胞外小胞内の microRNAs (miRNAs)やタンパク質に原因がある可能性が示唆された。この分野は筆者の研究分野でもあるためとても興味深い話であった。しかし、この分野はまだまだ発展途上の分野であり、基礎的な検討や細胞外小胞の抽出方法など技術的な検討も十分必要であることが分かった。

**5. Prof. Anne Vral (ゲンク大学, ベルギー)による講義:** 細胞質分裂阻害微小核試験(CBMN 法)がテーマの講義であった。DNA に損傷が生じると細胞分裂時に紡錘体に結合できなかった染色体が小核として形成される。CBMN 法はリンパ球に対してサイトカラシン B を用いて細胞質の分裂を阻害することで 2 核になった細胞に微小核が存在しているかを調べる方法である。DNA 損傷に依存する方法であるため、放射線に特異的な検出方法ではないものの、放射線を当てると DNA の損傷が生じるため、DNA 損傷を評価する際によく用いられる方法である。この講義では CBMN 法のプロトコルやカウントする細胞など実際に CBMN 法を行うときに役立つ方法を詳細に解説していただいた。この講義のおかげでのちに実施される Scoring 実習に大いに役立ち、非常に楽しめた。

**6. Prof. Harry Scherthan (ミュンヘン連邦軍大学, ドイツ)による講義:** リン酸化ヒストン H2AX ( $\gamma$ -H2AX)測定がテーマの講義であった。 $\gamma$ -H2AX とは H2AX という H2A histone protein の 139 番目のセリンがリン酸化されたものである。 $\gamma$ -H2AX は DNA の double-strand breaks (DSBs)発生時に修復に関わる分子の一つとして必要とされているため $\gamma$ -H2AX は DSBs 生成時によく生成されるものの、 $\gamma$ -H2AX の存在は DSBs の発生に限らないため解釈にはしばし注意が必要である。この $\gamma$ -H2AX の測定方法は蛍光顕微鏡と imageJ などの画像解析ソフトを用いて解析することができるため、この二つがあれば比較的簡単に解析ができる。筆者も今後実験で導入する可能性があったため非常に勉強になった。

**7. Prof. Joanna Polanska (シレジア工科大学, ポーランド**

**共和国)による講義:** 放射線研究における低スループットおよび高スループットアプローチによる実験結果の統計解析の講義であった。現代の研究には Next-generation sequence(NGS)や microarray などの high throughput なアプローチによる研究が行われる。これらの実験によって得られた膨大なデータを使って様々な解析を行うが、統計処理が問題となる。その生物学的な統計処理について非常に重要な講義であった。自分の研究内容ともつながるところが多く、非常に勉強になった。

**8. Prof. Helga Stopper (ヴュルツブルク薬理学・毒物学研究所, ドイツ)による講義:** さまざまな酸化ストレスの複合曝露や化学的突然変異誘発物質による DNA 損傷がテーマの講義であった。DNA の損傷には物理学的、化学的、生物学的な要因があるが、この講義では化学的な DNA 損傷について DNA を損傷する可能性のある分子や原子について非常に詳しく解説していただいた。発がん性物質は人工のものだけではなく天然中にも存在するものはたくさんあり、これらの DNA を損傷する分子、原子が存在していることを理解するために非常に重要な講義であった。

**9. Prof. Beata Brzozowska (ストックホルム大学, スウェーデン)による講義:** 線量概念とモンテカルロ法を使った放射線生物学についての講義であった。モンテカルロ法とは、放射線のようなランダムに動くものや数学的に仕組みの難しいものを確立モデルとして実際に計算するとき、コンピューター上で乱数を発生させてシミュレーションを繰り返す in silico な実験手法である。元々は、中性子の動きをシミュレーションするのに作られたものだが、近年は放射線の被ばく線量の予測にこのモンテカルロ法を組み合わせる in silico の実験が注目されている。筆者は wet の実験が多いためこのような dry な実験は非常に難しいと感じたが、このようなコンピューター上での in silico の実験は非常に注目されている。講義では実際に水中での光子線や電子線の動きなどのシミュレーション結果や論文の解説をしていただいた。この講義はとても興味深く、dry な実験は今後、wet な実験と組み合わせることで非常に面白い実験ができると感じた。

**10. Dr. Serge Candeias (フランス)による講義「放射線と免疫システム」:** 慢性疾患治療のためのラドン利用についての講義であった。この講義では、自然免疫や獲得免疫などの免疫学の基本的なところからどのようにして免疫が働くかを細かく解説していただいた。慢性疾患治療に対してがん治療のような強力な放射線照射量ではなく一回照射量が 1 Gy 未満で全部で 12 Gy 未満の少ない照射量で行われることがある。この

少ない照射による治療法は抗免疫作用により慢性炎症を下げる効果があるが、当然肺がんや皮膚がんのリスクについても議論されている。これらのことについて、最新の論文報告を交えながら解説していただいた。日本の三朝温泉というところでこの療法を行っているとのことで、非常に興味深い話であった。

### III. 実習

CELET course 2023 では第1週の午後と第2週に実習があり、第1週の午後に染色体異常のスコアリング、線量測定、 $\gamma$ -H2AXの実習を行い、第2週は最終日に行われる各実習の発表に向けての実習を行った。

**1. 染色体異常のスコアリング：** この実習ではチャイニーズハムスターCHO-K1細胞に $\gamma$ 線2 Gy, 4 Gyを照射したのち、コルセミドを投与して各細胞周期になるように時間を調節したサンプルと、 $\alpha$ 線を1 Gy照射したのちコルセミドを投与してS/G1期になるように時間を調節して染色体の状態を観察した(図2)。



図2 染色体異常の検出

これらの処理したサンプルは全て用意された状態でどのスライドがどの処理をしたのかを推測した。放射線照射した細胞の染色体は染色体が切断されたり、くっついたり様々な形をとることを染色体異常(Chromosomal aberration; CA)と言う。それぞれの形のCAの割合を算出した。このCAの割合で各スライドの放射線量についてディスカッションを行った。

**2. 放射線量の測定実習：** この実習では、天然の放射性ラドンのガスを捕集して、専用のアルファ線測定器によってエネルギースペクトルを測定し、その特徴について学んだ。研修開催地であるスウェーデンの地質は花崗岩の分布が多く、それに含まれるウラン系列核種であるラジウム-226(物理半減期;約1600年)の娘核であるラドン-222は、ガスとして浮遊するため、屋内では換気による濃度の制御が重要な地域である。また、トリウム系列であるラジウム-224もまた同様に、娘核であるラドン-220がガスとして浮遊する。これら放射性ガスは共通してアルファ放出核であるため、高濃度ガスは肺への生物効果が

大きく発癌因子ともいわれている。したがって、モニタリング技術の実演には大きな意義がある。本実習では、サンプルである花崗岩をタッパー容器に移し、ラドンモニター(ALPHAGRД, Bertin technologies Inc.)にてガスを捕集し、アルファ線の波高分析から放射線量を算出した(図3)。



図3 ラドン鉱石からのアルファ線測定の様子

また、放射性ラドンからわずかに放出される低エネルギー $\gamma$ 線を専用のスペクトロメータで解析したところ、時間経過と共にタッパー内から検出される線量率は上昇することが確認され(図4)、屋内での換気的重要性が実演された。

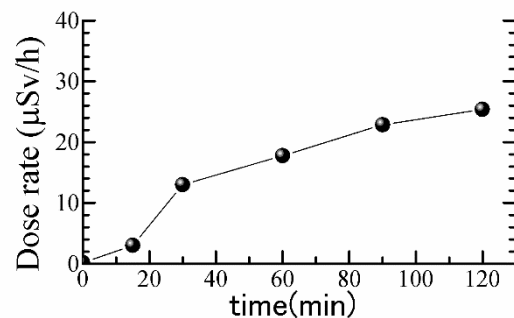


図4 ラドン由来 $\gamma$ 線の測定

次にセシウム-137, ナトリウム-22, 及びバリウム-133mの $\gamma$ 線源を用いて、線源から検出される放射線量率とその距離の関係について確認した。放射線は距離の二乗に反比例することが実験的に証明された。実際の放射線管理において、線源からの被ばく量を低減させるためには、とにかく距離を取ることが大切であることが分かった。また、様々な $\gamma$ 放出核種におけるエネルギースペクトルを波高分析装置にて解析して、核種ごとに放出される $\gamma$ 線エネルギーが異なることや、その特徴を利用して核種同定に役立つことなどを学んだ。他にも、主催者である Wojcik教授が、これまで自身のコレクションとして収集してきた第2次大戦前後の放射性蛍光塗料が塗られた懐中時計やスピードメータ等が紹介され、それらがどの程度放射線サーベイメータに反応するのか実測した。当然ながら本実習の経験は、私自身初めての分野であったため非常に勉強になったが、Wojcik教

授がこれらのコレクションを紹介しているワクワクした口調や表情がいかにも僕の考える Scientist であったことが非常に印象深く刻まれている。

**3. 細胞内 $\gamma$ H2AX測定:** H2A histone family member X(H2AX)はヒストンタンパク質であり、このうち139番目のセリンがリン酸化されたものが $\gamma$ H2AXである。この実習では、免疫蛍光抗体法により $\gamma$ H2AXの検出を行った(図5,6)。

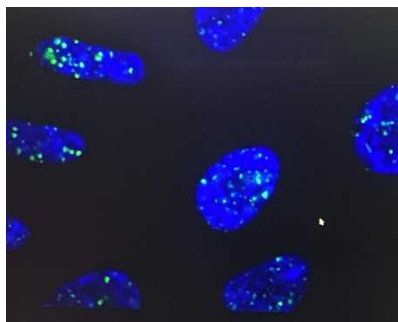


図5  $\gamma$ -H2AX染色によるDNA損傷の検出

本実習では実際にヒト網膜上皮細胞(RPE-1)を使って $\gamma$ H2AXの検出を行った。培養したRPE-1細胞を4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI)で核染色し、 $\gamma$ H2AXの検出には fluorescein isothiocyanate(FITC)が conjugate された2次抗体を使用し、蛍光顕微鏡を使用して観察した。最終日のプレゼンテーションでは事前に用意された各線量で照射されたRPE-1細胞の $\gamma$ H2AXの蛍光顕微鏡で観察した写真のデータをいただき、ImageJやFijiを使用して解析を行った結果を発表した(図7,8)。

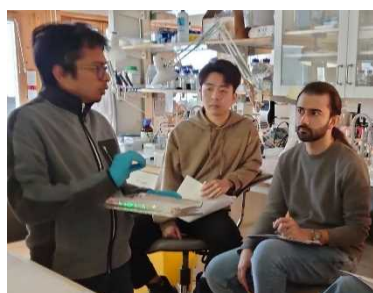


図6. 染色体染色の実習風景

これらの画像解析ソフトを使用して解析すると、病巣が小さいものと大きいものに分けられ、線量依存性に増加していく結果となった。これは、電離放射線照射によって生成されたDSBsの量に依存している可能性があるとして我々は考察した。



図7. 実習プレゼンテーションの様子



図8. 実習プレゼンテーション後の集合写真

#### IV. その他交流イベント

CELET course 2023では講義と実習以外に土曜日にStockholm市の約70km北部の都市であるUppsala市への観光が企画された。UppsalaはStockholm central駅からスウェーデン特有の急行列車で50分程度の距離に位置しており、北欧最古の大学であるUppsala大学があることで有名な学園都市である。我々は、Uppsala市到着後にリンネ植物園を訪れた(図9)。



図9. リンネ植物園での集合写真

リンネ植物園では、植物学者であるカール・フォン・リンネが使用していた住居や植物園を見学した。住居内には当時のものがたくさん保存されており、当時の雰囲気を楽しむことができた。各自ランチを取った後、午後にはUppsala大聖堂を訪れた(図10)。



図 10. Uppsala 大聖堂

これらの観光後にストックホルム大学にてパーティーを開いていただいた。ここでは、スウェーデンでよく食べる鹿肉もあり自分の舌にはとても美味しく感じた。また、このパーティーのおかげで CELET 参加者や様々な研究者と話ができ、今まで以上に打ち解けることができた。さらに第 2 週目の水曜日には、スウェーデンの伝統料理をいただく立食パーティーを開いていただいた。こちらのパーティーでは日本でも名前の聞いたことのあるシュールストレミングの開封が披露された(図 11)。シュールストレミングはニシンという魚を塩漬けした発酵食品である。匂いは、発酵食品であるため非常に強烈であったが食べてみると少し塩気の強い食べ物であり味は美味であった。



図 11. 世界一臭い缶詰で知られるシュールストレミングでおもてなしのイベント

## V. 最後に

筆者にとって CELET course 2023 は初めての海外研修で、様々なバックグラウンドを持った海外の若手研究者と交流できたため大変貴重な経験になった。2 週間という短い時間ではあったものの毎日が非常に刺激的であったという間に終わってしまった。筆者は、放射線をほとんど学んだことがないため、講義も実習も何もわからないところから始めたが、この 2 週間で基本的な放射線生物学を学べたと感じている。しかし、当たり前ではあるが日常会話やディスカッションなど全ての場面で英語しか使わないため非常に苦

勞した。様々な場面において伝えたいことがうまく伝わらなかったことがあった。英語は研究者になるためには絶対に必要不可欠であることが本研修で痛いほど痛感した。本研修を通して、研究と語学の勉強を両方とも今まで以上に研鑽すべきであると強く感じた。

## VI. 謝辞

本研修へ招待いただきました、RadNorm プロジェクト CELET コース主催者である、ストックホルム大学放射線防護研究センターの Andrzej Wojcik 教授に感謝申し上げます。

筆頭演者は、令和 5 年度弘前大学大学院保健学研究科生体応答科学センターにおける、海外短期留学プロジェクトによる企画、及び JST 次世代研究者挑戦的研究プログラム JPMJSP2152 の海外渡航支援に基づき研修へ参加し本原稿をまとめた。

## 【Material】

### The report of training course for biological effect by ionizing radiation -CELET course 2023-

KEISUKE YAMAMITO<sup>\*1</sup>, MITSURU CHIBA<sup>\*1,2</sup>, SATORU MONZEN<sup>\*2,3</sup>

(Received January 26, 2024 ; Accepted February 11, 2024)

**Abstract:** The CELET course 2023 was held from November 13 to November 24, 2023 at the *Centre for Radiation Protection Research* at Stockholm University, Sweden. The course was designed for master or PhD students and young researchers from the European Union included in Stockholm University to understand the biological effects by ionizing radiation (IR) to cell. The training course was conducted in the form of lectures and practical exercises on the effects of IR on cells. The lectures were given by experts in IR and cell biology, as well as by Stockholm University professors, either in person or via zoom. The practical training was led by Andrzej Wojcik's laboratory, and a presentation of the practical training was given. In this paper, we would like to briefly introduce the contents of the lectures and practical training conducted during the training.

**Keywords:** Ionizing radiation, CELET course, Sweden, Cytotoxicity, Dosimetry