

エンリッチメント環境による Eustress（よいストレス）で放射線のリスクを低減する

(受託者) 国立研究開発法人 量子科学技術研究開発機構

(研究代表者) 島田 義也 放射線医学総合研究所

(再委託先) 学校法人 東邦大学、国立大学法人 東京大学、

国立大学法人 茨城大学、学校法人 産業医科大学

(研究期間)平成27年度～29年度

1. 研究の背景とねらい

原子力発電所の事故や津波、火山の爆発などで生活スタイルが一変することによる心理的、身体的ストレスの増加によって健康の悪化が指摘されている。特に子どもは、長引く避難所や仮設住宅での生活により、友達と一緒に外で遊べない、それに伴う運動不足などの身体的ストレスや家族の離散などに伴う精神的ストレスの影響を受けやすい。それ故、生活環境の変化が子どもの心と身体に与える影響に対して適切な対処法の提供が求められている。近年、環境エンリッチメント (EE: Environmental Enrichment, 豊かで快適な「よいストレス」: Eustress) が神経、内分泌及び免疫系に作用し、脳の老化予防、メタボリック症候群の予防、さらにはがん予防にも効果的であることが実験的に実証されている。本研究は、マウスにあそびや運動、適温環境、社会的交流がある環境 (エンリッチメント環境、図1) を提供することで、健康を増進することができるか、また、放射線による健康障害の予防・低減が可能かを通常環境 (SE: Standard Environment、図1) と比較して多面的な指標で検証することを目的とする。具体的には、以下の点について解析を行う。

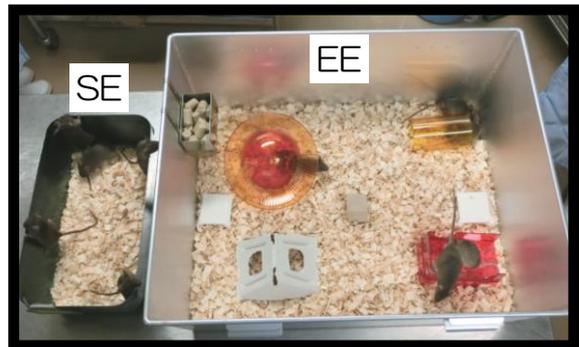


図1. エンリッチメント環境での飼育
SE: 標準飼育、EE: エンリッチメント環境飼育

(1) エンリッチメント環境によるホメオスタシス増強とがん予防

① 内分泌ならびに発がんに関する研究

EEによる肥満や炎症に対する修飾効果を生化学的指標を用いて明らかにする。また、ヒト家族性大腸腺腫症モデルマウス (Apc^{Min/+}マウス) を用いてがん予防効果についても明らかにする。

② 自然免疫に関する研究

EEによる自然免疫細胞であるマクロファージなどの機能変化を明らかにする。

③ DNA修復に関する研究

EEによる細胞のDNA損傷修復力と修復能力に関与する体内因子の産生能への影響を明らかにする。

(2) 放射線発がんの新たな分子機構解明とEEによる修飾効果

EEによる放射線被ばく後のDNA損傷応答やアポトーシスに関わる長鎖非コードRNAの発現への修飾効果を明らかにする。

(3) 快適温度飼育環境 (EE) による移植腫瘍に対する抑制効果

適温環境による免疫活性や移植腫瘍に対する抑制効果を明らかにする。

これらの解析により、放射線の健康影響を生活環境の改善で低減可能かを示すことで、災害時の避難生活や仮設住宅で生活する子どもの健康回復（維持）の施策に関する学術的基盤を提供することを目標とする。

2. これまでの研究成果

(1) エンリッチメント環境によるホメオスタシス増強とがん予防

① 内分泌ならびに発がんに関する研究

EEが放射線生体応答に対する効果を検証するため、前年度に引き続き、3週齢（幼若期）あるいは11週齢（成体期）からエンリッチメント環境（EE）あるいは通常環境（SE）で8週間飼育したマウスにX線を0～2Gy照射した後に解剖し、(1)①の内分泌と発がんに関する研究と(1)③のDNA修復に関する研究のために血清と臓器（胸腺、脾臓、肝臓、肺、脂肪）を凍結保存した（図2）。また、解剖時に(1)②の自然免疫に関する研究のために腹腔細胞を回収した。さらに、ホルマリン固定した消化管組織の病理解析（クリプトの形態学変化、アポトーシス数の測定など）を行った（図3）。加えて、生後2週齢のApc^{Min/+}雄マウスにX線を0～2 Gy照射し、3週齢からEEあるいはSEで飼育する。20週齢時に解剖し、血漿と臓器の保存を行い、血漿の生化学検査と臓器の病理解析を行った（図4）。その結果、幼若期及び成体期のEEは、体重と白色及び褐色脂肪組織の重量を有意に減少させた（図5）。また、EEはSEに比較してアポトーシス誘導効果が高いことも認められた。

次に、Apc^{Min/+}雄マウスを用いた EEのがん予防実験で、EEは有意に体重の増加を抑制した（図6）。加えて、白色脂肪組織と褐色脂肪組織重量も有

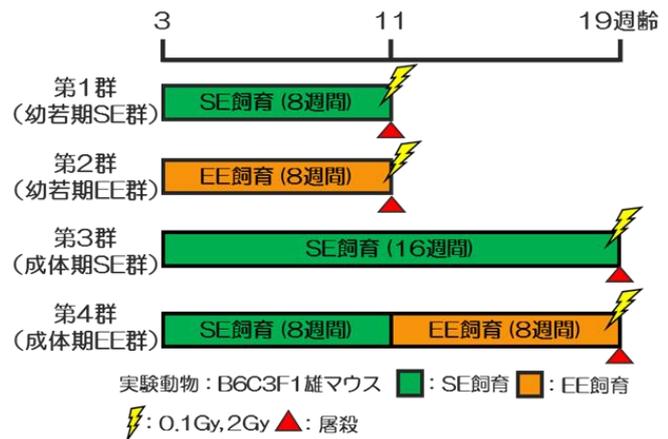


図 2. 実験デザイン 1

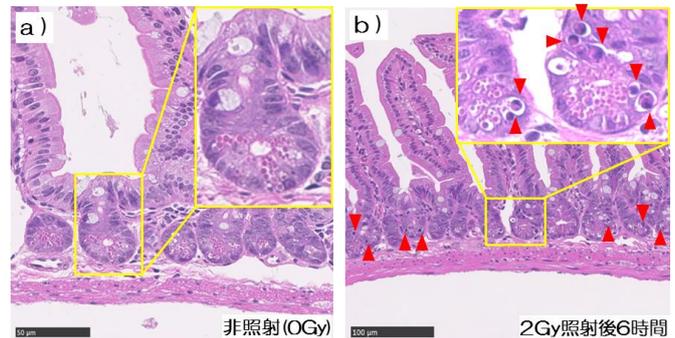


図 3. アポトーシス細胞の組織像

- a) 非照射群のマウス小腸
- b) X線 2Gy 照射後 6 時間目のマウス小腸
矢印 (赤色) は、アポトーシス細胞

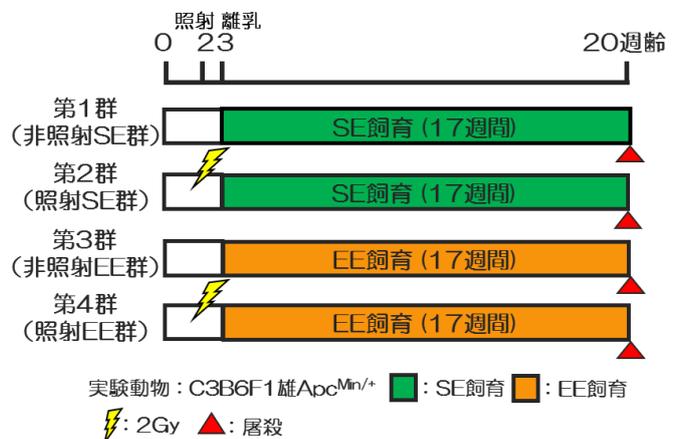


図 4. 実験デザイン 2

意に抑制した。EE のがん予防効果に関しては、大腸腫瘍数を SE に比較して有意に抑制した。一方、小腸腫瘍に対しては、腫瘍数の抑制効果はみられなかったものの腫瘍サイズを有意に抑制することが分かった。EE の脂質代謝への効果として、総コレステロール、中性脂肪及び悪玉コレステロール(LDL)値を有意に減少させた(図7a-c)。一方、善玉コレステロールである HDL 値は、有意に増加させた(図7d)。

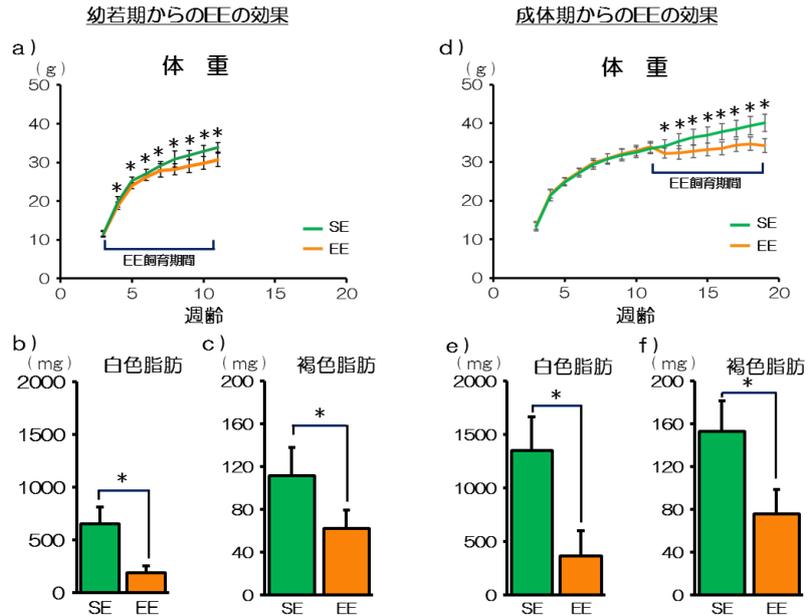


図5. 幼若期(a-c)及び成体期(d-f)からのEEが体重、白色脂肪及び褐色脂肪組織重量に与える効果
a, d) 体重の経時的変化、b, e) 白色脂肪組織重量の変化、c, f) 褐色脂肪組織重量の変化
データは、平均値±標準偏差(n=15)を示す。
*P<0.01(t検定もしくはウェルチの検定でSEとEEの間で統計学的に有意を示す。)

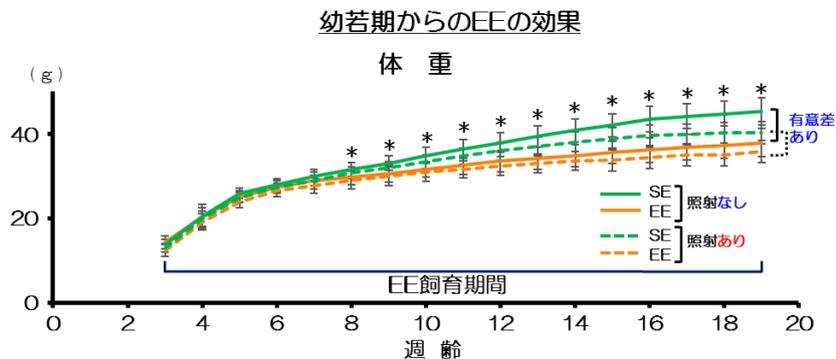


図6. Apc^{Min/+}マウスにおける体重の経時的変化
データは、平均値±標準偏差を示す。
*P<0.01(t検定もしくはウェルチの検定でSEとEEの間で統計的に有意を示す)

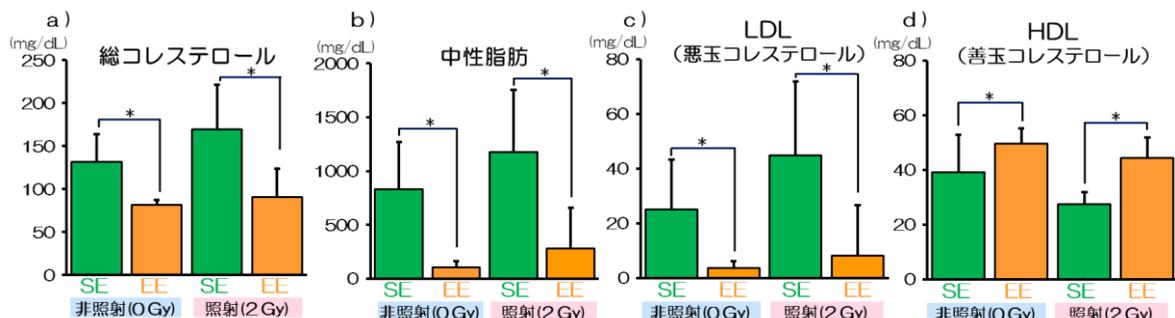


図7. EEによる総コレステロール、中性脂肪、LDL及びHDLに与える効果
データは、平均値±標準偏差を示す。
*P<0.01(t検定もしくはウェルチの検定でSEとEEの間で統計的に有意を示す)

② 自然免疫に関する研究

幼若期 EE の自然免疫に対する効果を明らかにするため、(1) ①で回収した腹腔細胞中のマクロファージによるアポトーシス好中球と 2 次的ネクローシス好中球の貪食、腹腔マクロファージと二次的ネクローシス好中球あるいはネクローシス好中球の共培養に伴うケモカイン、サイトカイン産生、腹腔マクロファージのサブセットマーカー解析を行った。その結果、EE はアポトーシス好中球の貪食を促進し、2 次的ネクローシス好中球の貪食を抑制した。また、ネクローシス好中球が産生する MCP-1 を抑制した。加えて、EE は炎症性マクロファージ(M1)を増加させたが抗炎症性マクロファージ(M2)は検出されなかった。

③ DNA 修復に関する研究

EE もしくは SE で飼育したマウスから採取した血清をマウス培養細胞の培養液に添加し、DNA 損傷修復タンパク質の蓄積量の違いの有無を比較する実験を実施した。また、EE もしくは SE で飼育したマウスの組織切片について、放射線照射後の損傷応答タンパク質のリン酸化ならびに炎症マーカーの発現解析についても検討した。その結果、EE で飼育された血清には DNA 損傷の修復効率を高める成分が含まれている可能性が示唆された。また、DNA 損傷発生に対し高感度、高精度で応答し DNA 損傷修復効率を上昇させる可能性も認められた。加えて、EE 群では肺における活性型マクロファージの迅速な応答および迅速な沈静化がみられ炎症応答効率が亢進している可能性も認められた。

(2) 放射線発がんの新たな分子機構と EE による修飾効果

確立した定量 PCR による長鎖非コード RNA (Long non-coding RNA, lncRNA) の検出法を用いて、EE に応答する lncRNA、放射線に応答する lncRNA 及び EE 下で放射線応答に変化が見られる lncRNA をいくつか見出した。

(3) 快適温度飼育環境 (EE) による移植腫瘍に対する抑制効果

B6C3F1 雌マウス (各群 50 匹) を 3 週齢と 11 週齢から適温環境 (EE、31℃) で 8 週間飼育後、通常環境 (SE、25.6℃) に戻して飼育する群とそのまま EE で継続飼育する群を設定した。また、SE のみで飼育する対照群を設定した。3 週齢から EE での飼育群の一部を、EE 開始後 0, 1, 3 ヶ月目に血液と脾臓、胸腺組織を採取し免疫能の解析及び病理組織検査を行った。残りのマウスはがん細胞移植を行い、EE のがん細胞増殖に対する効果を検討した。また、11 週齢から EE での飼育群と対照群においても同様の実験を行った。その結果、EE (31℃) 飼育は、体重に好影響を示したがその他の検討項目には明らかな効果は認められなかった。

3. 今後の展望

今回、「遊び、運動の刺激環境」の EE の効果として、体重と脂肪組織重量の増加抑制、アポトーシス誘導、マクロファージによる貪食能亢進、DNA 損傷修復能の亢進、脂質代謝関連因子の活性化及び腫瘍の抑制作用が示唆された。また、EE により発現が変化する lncRNA が存在することも明らかとなった。「快適温度飼育環境」の EE の効果として、体重への好影響のみが示唆された。現在、EE による免疫担当細胞の動態への効果を検討中である。

今後、EE による放射線誘発がんの予防機構を明らかにし、リスク低減化に資する学術的基盤提供を目指す。