

日本財団補助金による

1997年度日中医学協力事業助成報告書

— 中国人研究者・医療技術者招聘助成 —

財団法人 日中医学協会

理事長 中 島 章 殿

平成10年 3 月 31 日

I. 招 へ い 責 任 者 関 根 一 郎



所属機関 長崎大学医学部原爆後障害医療研究施設 職名 教授

所在地 〒852-8523 長崎市坂本1丁目12番4号 電話 095-849-7105

招へい研究者氏名 温 春 陽

所属機関 長崎大学医学部原爆後障害医療研究施設

職 名 長崎大学外国人客員研究員

研 究 テ ー マ 実験的放射線腸炎の病理組織学的研究

II. 日 本 滞 在 日 程

1996年10月21日 来日。長崎大学原爆後障害医療研究施設にて見学生として研修。

1997年4月1日 外国人客員研究員。原爆後障害医療研究施設にて研究。

日中医学協会より中国人研究者・医療技術者招聘助成を受ける。

1998年2月20日 長崎大学大学院研究科を受験、合格。

(別紙)

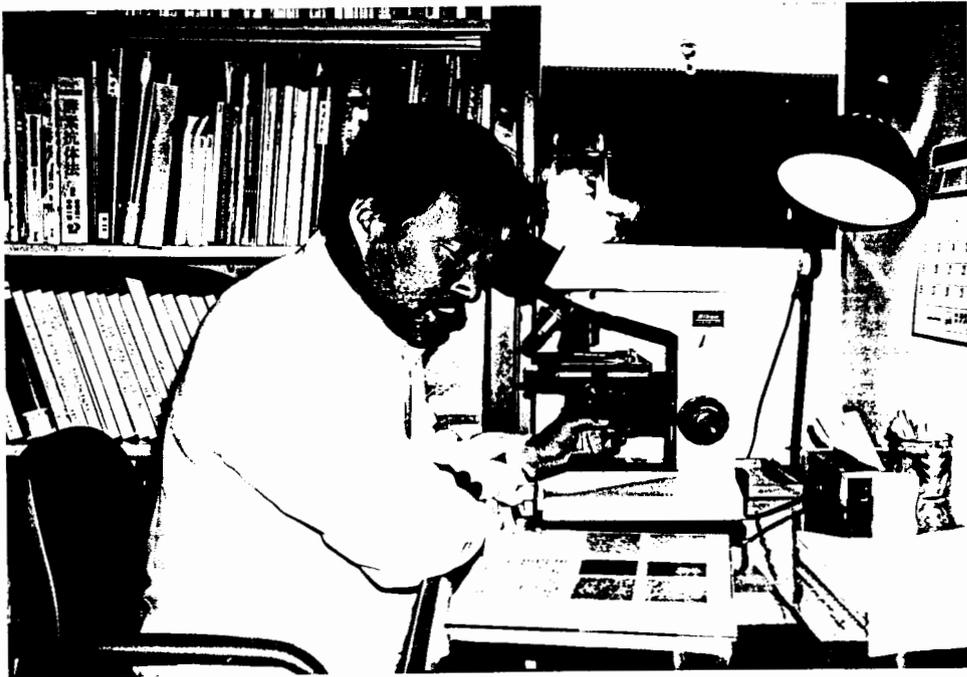
1997年4月より研究活動を開始しました。日本語が不十分な点を補うために、長崎大学内に開講されている日本語講座に時間が許す限り参加、日本語の力を付けることに努力しました。結果、日本語力はかなり上達し、病理学の学習・理解が可能となり、また種々の実習における説明の理解も充分で意見交換にも参加できるようになりました。

病理学の基本力を養うために、日本語の病理学総論の教科書を用いて、病理学総論：細胞組織障害、修復、循環障害、炎症、腫瘍、免疫などについて学習しました。さらに、病理学各論の教科書をもって各臓器組織の特有の疾病の病理学的変化、特に各臓器に発生する腫瘍病変の特徴を理解し、同時に組織標本を用いての病理組織学の実習を行い、実際に病理組織診断ができるようになりました。特に私共の教室の専門領域であります消化器、消化管の病理については、かなり深いレベルまで理解、修得しました。

日常の病理検査室の業務であります生検、あるいは手術材料の病理診断学の実習を連日行いました。また、病理学の最も基本的な手技である病理標本作製法について病理標本作製室で実習を行いました。すなわち、手術摘出された標本の肉眼所見会に参加し、肉眼による観察・診断の方法を修得し、手術材料より標本切出し、脱水系列、包埋、薄切、染色と云う過程を実際に行い、標本作成の手技とその理論を修得しました。さらに、免疫染色と云った特殊な染色の手技についても、その実際と理論を修得しました。

動物実験手技についても医学部附属動物実験施設での講習会に参加、利用者としての資格を取得しました。また動物実験の基本的なトレーニングを受け、ラットの取り扱い、麻酔法、そしてラットの解剖、さらには組織標本作成法についての実習を行いました。

トレーニングが終了した9月頃より、実験と実験助手を担当するようになりました。即ち、教室の主研究テーマのひとつである「実験的放射線腸炎についての研究」に着手いたしました。既発表の論文から実験内容を検討し、実験計画書を作製し、実験準備を行い、実験に着手しました。そのために、まず学内で開催されています「放射線従事者講習会」に参加、利用者許可証を取得しました。実験自体はX線発生装置を用いて放射線をラットに全身照射、経時的に標本を摘出し、病理標本を作製・観察するものでした。この半年間に行った実験とその結果の概要は下記の通りです。



研究中の温春陽先生

低線量放射線による腸管アポトーシス—自律神経機能異常ラットを用いて—
実験担当者：

温 春陽、関根一郎、伊東正博、七條和子、松鶴睦美、中村恭子

[研究目的]

放射線照射後、全身に見られる倦怠感、無気力、食欲不振、嘔気等は放射線宿酔 (radiation sickness) と呼ばれており、放射線被曝者に大きな苦痛を与える。原因には細胞障害説、免疫機能障害説など種々想定されているが、確立したものはない。その一つとしてこれら症状が交感神経・副交感神経に関係していることより、放射線照射による自律神経機能失調すなわち機能障害やアンバランスといったものが考えられている。一方、広島・長崎の原爆被曝者あるいは、主に悪性腫瘍の治療としての医療用放射線照射後みられる、放射線宿酔や放射線障害の発現の程度には個人差 (個体差) があるように思えるが、個体差の原因や機構は明らかでない。われわれは1968年京都大学で確立され、人の高血圧症に最も近い遺伝的高血圧モデルとして、高血圧実験領域で世界中で頻用されている高血圧自然発症ラット (Spontaneously Hypertensive Rats : SHR) が自律神経異常、特に交感神経系が亢進していることに注目し、SHRと対照の京都系ウイスターラット (WKY) を用いて自律神経とその機能に関する種々の実験を行ってきた。例えば、数時間のストレスにより、胃粘膜には出血性胃潰瘍 (ストレス潰瘍) が惹起される。ストレス潰瘍の発生には副交感神経が大きく作用するが、交感神経は副交感神経作用を抑えることで、ストレス潰瘍発生には抑制的に働き、結果、交感神経の亢進したSHRにはストレス潰瘍は発生しにくい。これまでわれわれが行ってきたSHRとWKYを用いた放射線と自律神経の関係の研究の結果としては、X線全身照射後見られる食思不振や下痢の結果生じる体重減少が、WKYに比してSHRに高度であること、WKYは全身照射7.0Gyで初めて死亡するものが出るが、SHRは6.0Gy全身照射で死亡が始まるなど、SHRの放射線感受性が高いことや、SHRは全身X線照射後数時間で見られる血圧低下やその後の回復と云った血圧の変動や、組織内 (小腸、結腸) の交感神経機能の指標としてのカテコールアミン含有量の変動が大きく放射線照射により交感神経機能がSHRで大きく作動すること、さらに小腸、大腸などに見られる放射線組織障害がSHRの方がWKYより強いことなどを明らかにしてきた。さらに放射線照射後、最も早期かつ、顕著に組織内にみられる現象としてのアポトーシスがある。アポトーシスは細胞死の一種で細胞自殺とも云われ、放射線照射では分裂・増殖しつつある細胞が被曝することにより増殖・分裂を停止し死滅していく現象と捉えられている。最近のわれわれの研究により胸腺、脾臓、小腸といった放射線に感受性の高い臓器においてアポトーシスの出現がSHRで高度であることを明らかになった。今回の実験では、これまで放射線障害の研究の対象であった高線量と異なり、低線量照射による小腸のアポトーシス出現数のSHR, WKY間での差異や、そのアポトーシス出現に対する交感神経の役割について検討を行った。

[実験方法]

6週令雄性SHR-Izm, WKY-Izmに0.75、0.50、0.25GyのX線単回全身照射を行った。放射線照射後小腸腺窩に最もアポトーシスが出現する2時間後、空腸を摘出し中性ホルマリン固定、型通りに顕微鏡標本を作成し、組織学的に腺窩内のアポトーシスの数を算出した。次いで、交感神経遮断薬であるreserpin 5mg/kgを腹腔内に投与し、1時間後、tail-cuff法にて血圧を測定し、交感神経抑制効果を血圧の低下で確かめた上で、放射線全身照射を行い、同様にアポトーシス数の検索を行った。

[実験結果]

今回照射した最も低線量である0.25Gy照射でSHR, WKY両方の腺窩に、その数は少なかったが、アポトーシスを認めた。0.5、0.75Gyと線量依存性にアポトーシス数は増加し、いずれの線量においてもSHRでは有意にWKYより多かった (図1.)。

reserpin 投与後、1 時間で SHR、WKY とともに最高血圧、平均血圧の低下を認めた。SHR、WKY とともに 0.5Gy、1.0Gy、2.0Gy でアポトーシスの数は増加したが、reserpin 投与群ではいずれの線量でもアポトーシスの数は減少し、その減少は SHR で高度であった (図 2.)。

[考案]

これまで広島・長崎の原爆被爆者の放射線障害の研究は、高線量被曝者に対するものが多かった。結果高線量被曝者に種々の発癌が多いことが明らかとなり、放射線障害の最も恐るべきものとして発癌が大きく認識されるようになった。しかるに原爆後 50 余年が過ぎ、被爆者の絶対数が減少する中で、低線量被曝者の検討が最近注目されるようになった。また、基礎的放射線障害の研究も、障害の強い高線量領域の研究が多く、低線量放射線による生体・細胞応答に関するものは少なかった。最近、低線量に対する生物応答が着目され始め、種々の観点から低線量放射線に関する研究報告がなされ初めている。

アポトーシスと云う現象は旧くから細胞死の一種として知られていたが、最近、アポトーシスが個体発生に重要な役割を果たしていることが明らかとなったこと、生体内での細胞死でアポトーシスは当初思われていたものより、はるかにしばしば生じていることが解明されてきたこと、免疫系を構成している細胞の分化・機能獲得の場でアポトーシスが重要であること、さらに放射線による細胞・組織障害の重要にして最初に起こる現象がアポトーシスであること、などにより、アポトーシス研究は現代医学・生物学研究の最も注目されているテーマとなってきた。われわれも放射線によるアポトーシスに着目し、SHR、WKY を用いて、小腸、胸腺、脾臓、骨髄といった放射線高感受性臓器におけるアポトーシスの出現を 6.0~7.5 Gy と云う、比較的高線量で検討したことがあるが、SHR は WKY に比して、これらの臓器全てで強いアポトーシスの出現を観察した。

小腸粘膜上皮の life span は僅か 2~3 日とされ、腺窩で新生された上皮細胞は分化し吸収作用を行いつつ、エスカレーター様に絨毛先端にたどり着き脱落する。このため腺窩では、常時幹細胞の分裂像が観察され、細胞を補充している。小腸幹細胞の細胞分裂・増殖能は高く、リンパ球の一部と同様に最も放射線感受性の高い細胞とされる。

今回、低線量によるアポトーシス出現について、小腸粘膜を用いての研究を行った。結果、SHR、WKY 両ラットで 0.25Gy と云う低線量で 2 時間後、アポトーシスが空腸粘膜腺窩に観察されることが明らかとなり、両 strain とも低線量によるアポトーシス研究に有用であることが分かった。さらに SHR は低線量でも WKY よりも多くのアポトーシスを小腸腺窩で呈することより、SHR、WKY 間のアポトーシスの出現数の差異の原因は、高線量と同じであることが示唆された。さらに、交感神経抑制剤である reserpin 投与でアポトーシス出現数が減少したことより、交感神経は低線量領域でのアポトーシス出現を誘導もしくは亢進させている可能性が示唆された。今後、交感神経のみならず、副交感神経の腸管アポトーシスへの影響も検討したい。

Apoptotic index in the jejunum 2hrs. after irradiation

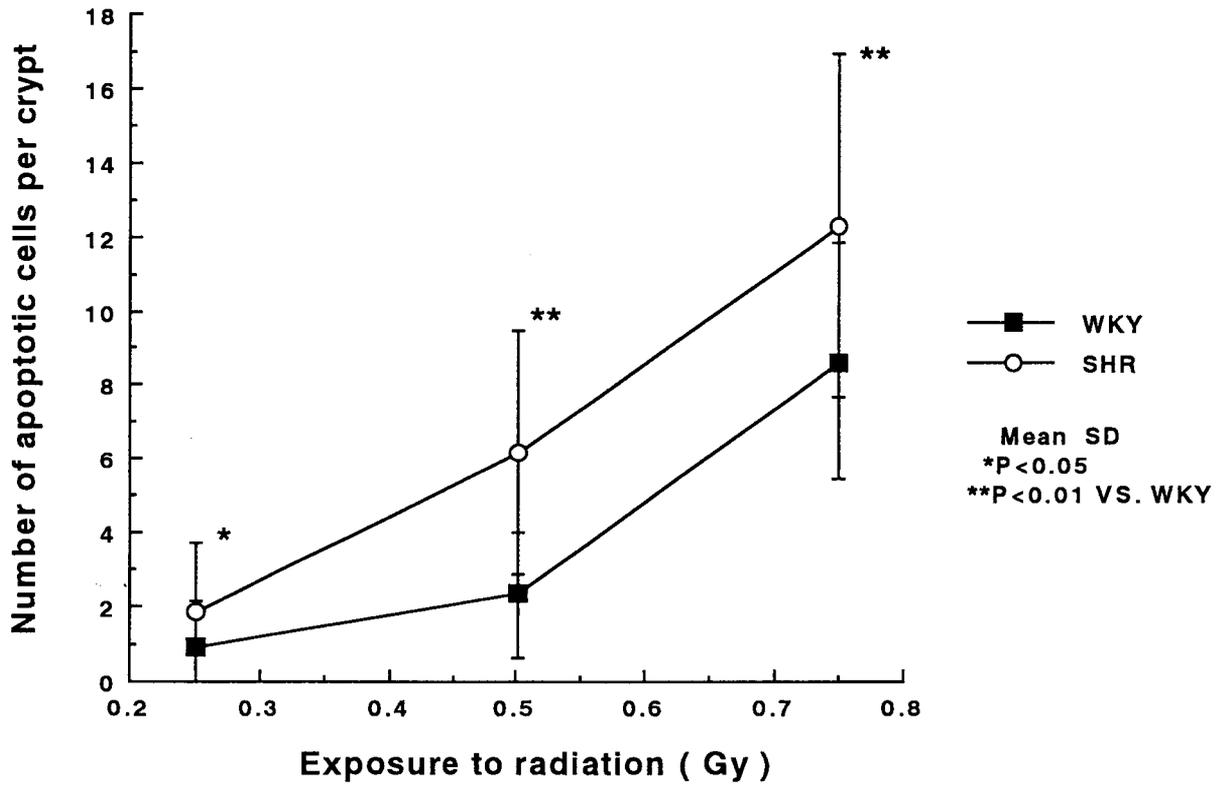
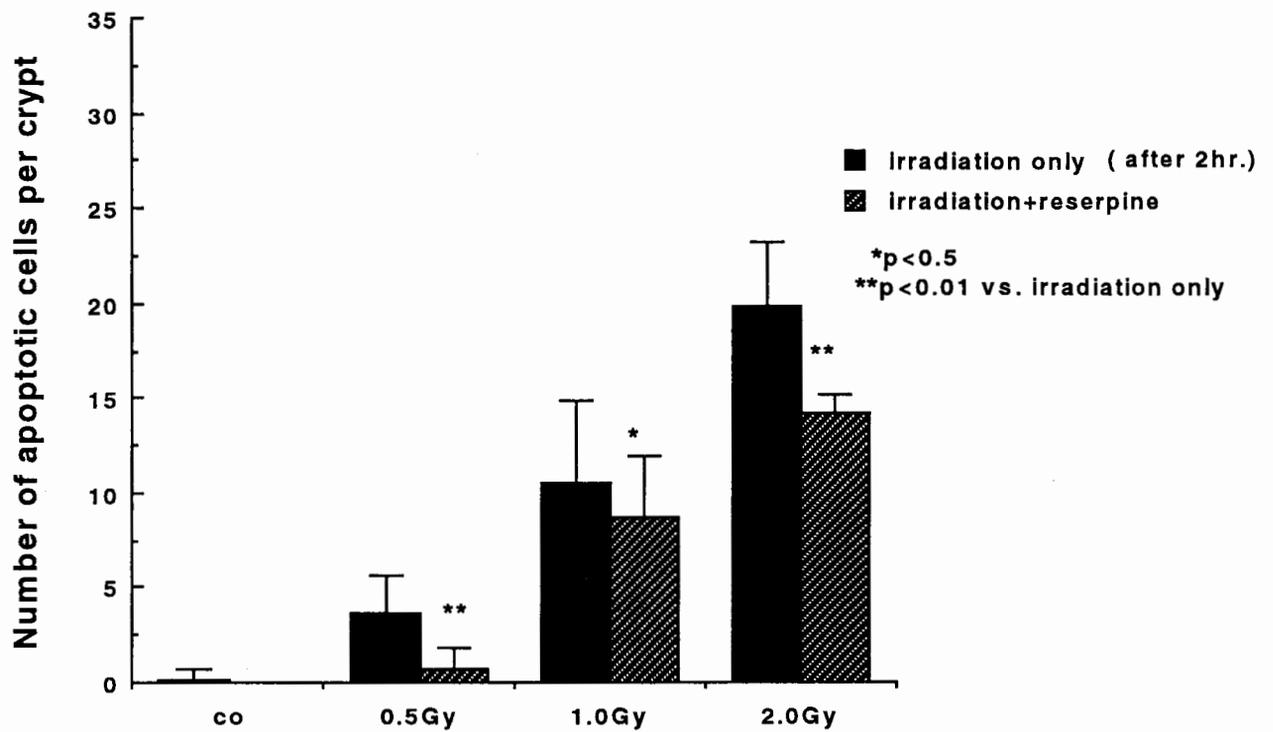


图 2

Apoptotic index in jejunum of WKY after injection of reserpine



Apoptotic index in jejunum of SHR after injection of reserpine

