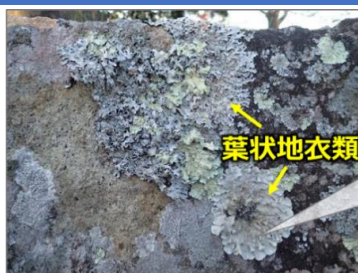


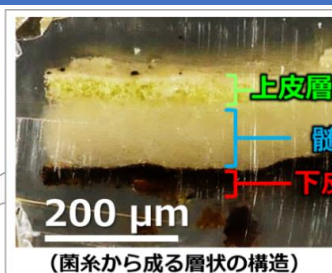
地衣類中で放射性セシウムが 保持される仕組みを明らかに —環境中のセシウムの動態解明に寄与—

【発表のポイント】

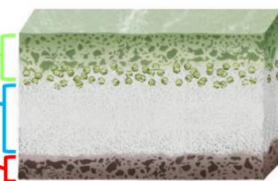
- 地衣類とは、藻類と共生している菌類の総称です。これまでに地衣類は、放射性セシウムを長期間保持すると言われてきました。しかし、「どの部位」で、「どのような状態（化学形態）」で保持するのか分かっていませんでした。
- 地衣類の生体組織を、切片作製装置を使って5 μm厚にスライスし、放射線に感光する特殊なフィルム（IP）による放射性セシウムの検出と、デジタル光学顕微鏡による組織観察を組み合わせることで、地衣類の生体組織内での放射性セシウムの分布する部位を、初めてマイクロスケールで特定しました。
- さらに、分子シミュレーションや電子顕微鏡分析等から、化学形態の違いにおける放射性セシウムが保持される仕組みを次のように推定しました。イオン状であれば下部組織のメラニン様の色素成分への捕捉。粒子状であれば組織表面への埋没等の物理的な捕捉。
- 今回確立したミクロな分布の測定手法や、推定した保持の仕組みは、キノコや山野草などの森林生態系における放射性セシウムの保持の仕組みや、環境中での放射性セシウムの動きに影響する化学形態の解明に役立つと考えられます。



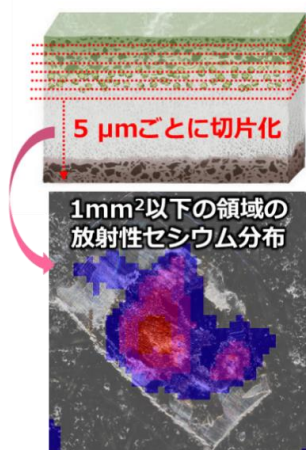
石造物表面で見られる地衣類の例



葉状地衣類（ウメノキゴケ）の組織断面写真

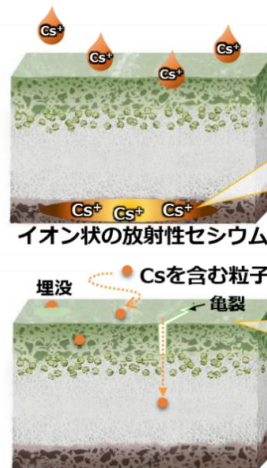


ウメノキゴケの断面模式図

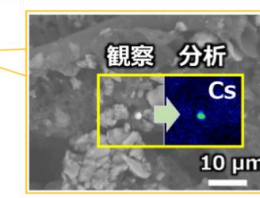
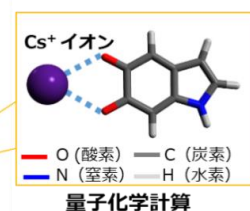


生体組織切片のIP像+顕微鏡写真

生体組織内の放射性セシウム分布位置情報



粒子状の放射性セシウム



表面の電子顕微鏡観察・分析

【概要】

法政大学（総長：廣瀬克哉）、日本原子力研究開発機構（理事長：小口正範）、国立科学博物館（館長：篠田謙一）の研究チームは、これまで謎とされていた「地衣類（藻類と共生する菌類の総称）」の生体組織内における2つの化学形態（イオン状・粒子状）の放射性セシウムの分布位置をマイクロスケールで特定することに世界で初めて成功しました。

私たちは、地衣類（※1）が大気中から降下する粒子状物質を体内に蓄積する性質を持つことに着目し、地衣類を用いて放射性セシウムを含む降下物の性質や空間的な分布を調べるための手法開発を進めてきました。それらの降下物を調べる上で、地衣類の体内で放射性セシウムが長期間保持されることを示す必要があります。しかし、なぜ放射性セシウムを長期間保持できるのか、つまり生体組織内の「どの部位」で「どのような化学形態」で保持しているのか、その仕組みは長年の謎でした。

従来、環境試料における放射性セシウムの二次元分布を調べるには、イメージングプレートを用いたオートラジオグラフィ（IP）法（※2）が用いられています。しかし分解能（1ピクセル当たり 25 μm × 25 μm ）が限られるため、ミリ単位以下の領域での詳細な分布を調べることができませんでした。私たちは、福島県内で採取した地衣類を、切片作製装置を使って 5 μm の厚さにスライスし、組織切片ごとの IP 像を観測することで、通常の分解能を超える 5 μm ほどの放射性セシウムの分布を測定できました。さらに、組織観察が可能なデジタルマイクロスコープ（※3）像を組み合わせることで、放射性セシウムと組織中の色素の分布のマイクロスケールでの観察を実現しました。

その結果、イオン状の放射性セシウム（※4）は上皮層のメラニン様物質（黒褐色色素）（※5）の分布位置に、粒子状の放射性セシウム（放射性セシウムを含む粒子）（※6）は上皮層から髄層部分に存在することを初めて発見しました。また、これらの位置情報と、量子化学計算（※7）や電子顕微鏡観察（※8）等から、放射性セシウムが長期間保持される仕組みを次のように推定しました。

「イオン状の放射性セシウムはメラニン様物質と錯形成（※9）して安定な化学構造をとることで上皮層に保持される。粒子状の放射性セシウムは菌糸の成長による組織表面への埋没や組織内部での物理的な捕捉で、上皮層から髄層部分で保持される。」

今回確立したミクロな分布の測定手法や、推定された保持の仕組みは、今後、地衣類だけでなく、キノコや山野草などの森林生態系における放射性セシウムの保持の仕組みや、環境中での放射性セシウムの動態に及ぼす存在状態の影響を明らかにするのに役立つと考えられます。

本研究成果は、令和4年9月17日に「日本放射化学会」（会場：東京大学）で発表されます。

【研究の背景・経緯】

地衣類は、陸上環境に広く存在し、長寿命でゆっくりと成長していくのが特徴です。また、物質を吸収して運ぶような根を持たず、地衣体表面全体から水などを取り込むため、大気中から降下する物質（セシウムを含む放射性元素や金属元素）を体内に蓄積する生物として知られています。そのような性質から、環境汚染レベルを調べる生物指標（バイオモニター）の一つとして世界中で認識されています^[1]。2011年3月11日の福島第一原子力発電所事故（以下「事故」）後、私たちはこの地衣類の性質に着目し、放射性セシウムを含む降下物の性質や空間的な分布を調べるための手法開発を進めてきました。

これまでに(1)事故直後の放射性セシウム沈着レベルが、事故から2年経過後の地衣類中の放射性セシウム濃度と関連しており、長期間保持されていること^[2]、(2)IP法で示された放射性セシウムの分布像から、地衣類中の放射性セシウムは安定した化学形態で長期間保持されている可能性があること^[3]、(3)量子化学計算により、地衣類が産生する二次代謝物とセシウムイオンが環境条件によって錯形成することで安定化する可能性があること^[4]、が示されてきました。

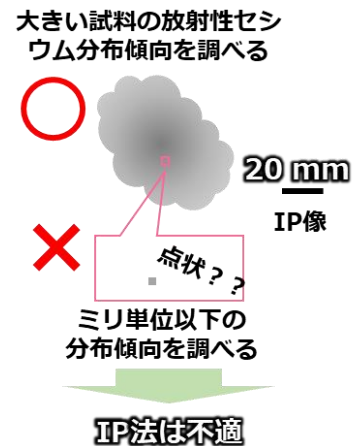
しかし実環境中の地衣類が、放射性セシウムをその生体組織内の「どの部位」で「どのような化学形態」で長期間保持するのか、その仕組みは長年の謎でした。



葉状地衣類（ウメノキゴケ類）の放射性セシウムの分布（左：写真、右：IP像）
（事故から6年経過後の地衣類）



地衣類の成長イメージ図
（中心部から放射状に成長し、外側へ向かうほど新しい組織）



先行研究から・・・

- ✓ 地衣類中の放射性セシウムは、新しい組織へ移動しにくい化学形態
- ✓ 「拡がりを持つ分布」は、イオン状と推定
- ✓ 「点状の分布」は、粒子状と推定

【研究の方法】

私たちは、研究対象とするウメノキゴケなどの葉状地衣類（※1）では厚さが数百 μm ほどであり、その内部構造が層状かつ明瞭で、産生される代謝物が層ごとに異なるという特徴に着目しました。地衣類試料には、事故から2年後と6年後、福島県内の互いに近接する地点で採取された「同一種」の「同程度の放射性セシウム濃度」のものを使用しました。最初に試料全体の放射性セシウム分布の傾向を調べ、先行研究情報^{[5][6]}から、「拡がりを持つ分布」をイオン状と推定、「点状の分布」を粒子状と推定し、それぞれの分布を含む断片に分けました。それぞれの試料を約 1 mm^2 の大きさにカットして、切片作製装置を使って水平方向に $5\text{ }\mu\text{m}$ の厚さでスライスし、各切片で放射性セシウムの有無をIP法で調べました（図1・2）。さらに、放射性セシウムの存在が判別できた組織切片について、1ピクセルごと（ $25 \times 25\text{ }\mu\text{m}$ ）の、IPの信号強度（数値）情報を抽出処理し、一定の強度範囲別に色分けすることで、微小領域の放射性セシウムの二次元分布像を得ることに成功しました（図3）。

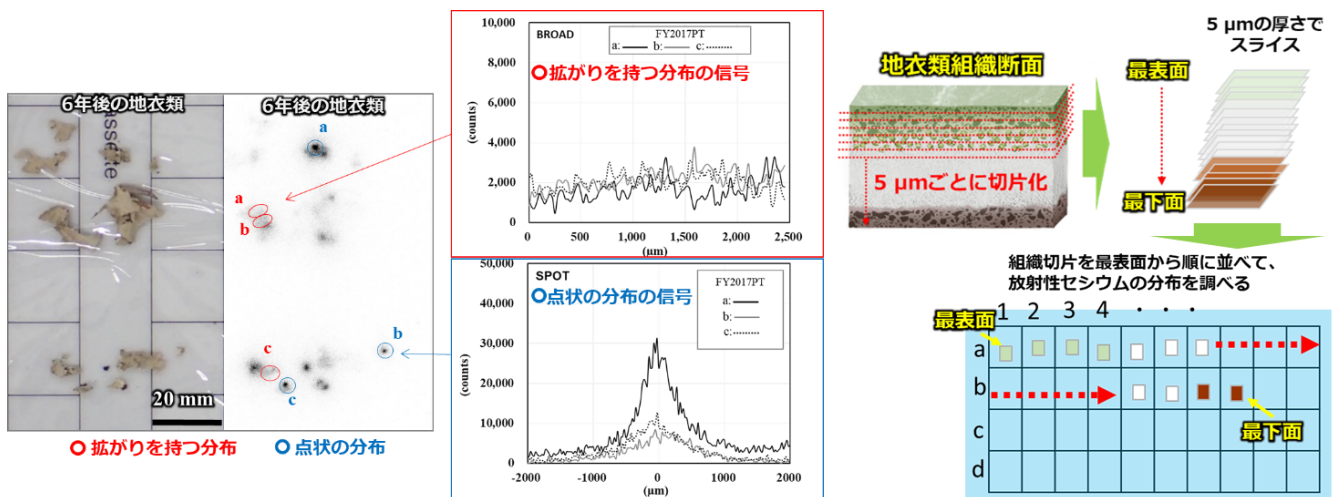


図1 IP像で見られた地衣類の放射性セシウムの二次元分布状況。2つのパターン「拡がりを持つ分布」と「点状の分布」の分布傾向を持つ試料をそれぞれ組織切片化する際のイメージ図。

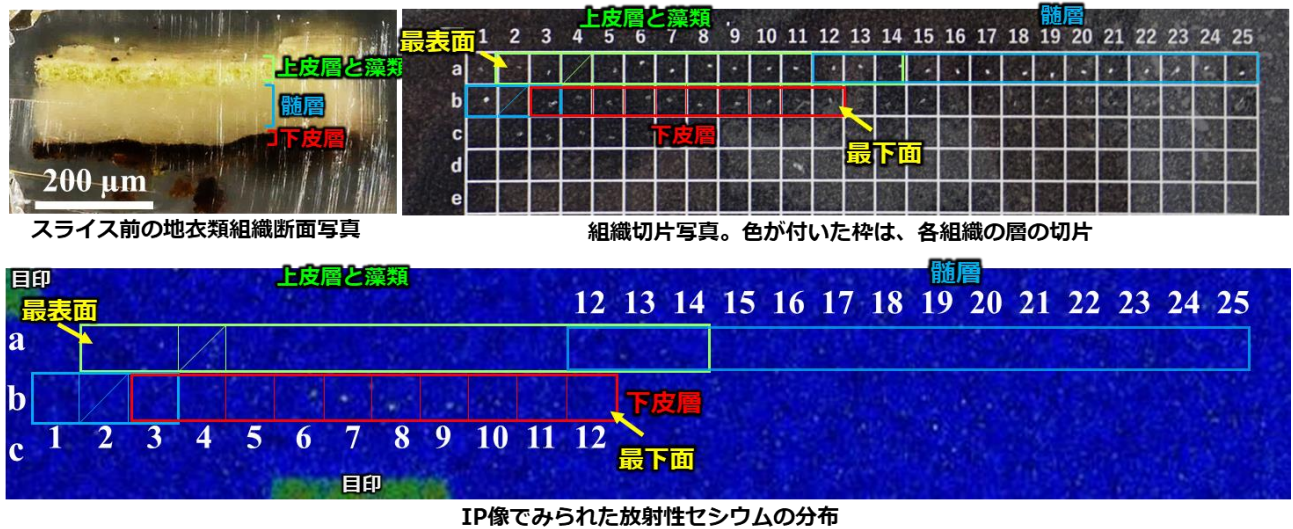


図2 「拡がりを持つ分布」の断片を組織切片化した試料のIP像。色付きの枠は、それぞれ組織層別の切片を示す（緑色：上皮層と藻類、青色：髓層、赤色：下皮層）。下皮層の一部で有意に放射性セシウム（下図中の白点）が検出された。

【研究結果と考察】

(1) 地衣類の生体組織内における「拡がりを持つ分布」

事故から2年後・6年後に採取された両方の地衣類で共通して、放射性セシウムが「拡がりを持つ分布」の場合は、地衣類の上皮層に放射性セシウムが存在していることが分かりました。さらに、切片ごとにIP像と、試料の組織観察ができるデジタルマイクロスコープ像を組み合わせることで、図3のように、黒褐色色素が沈着する組織の位置と放射性セシウムの分布位置が一致する様子が示されました。

地衣類の黒褐色色素は、「メラニン様物質」と呼ばれています。この物質を代表するメラニンの基本構造におけるセシウムイオンと錯形成する可能性のある部位について、量子化学計算でその錯形成の安定性を調べました。その結果、メラニン様物質とセシウムイオンとの錯形成の安定性は、地衣類が上皮層や髄層で産生する二次代謝物と同程度でした。しかし、実環境試料の上皮層や髄層の組織切片のIP像から有意な放射性セシウムは検出されませんでした(図2)。一方でメラニンは、セシウムと同族のアルカリ金属イオン(ナトリウム)を立体的な構造で閉じ込める^[5]ことが知られています。それゆえに、地衣類のメラニン様物質の構造が、イオン状の放射性セシウムの長期間の保持に深く関わっていると推定されました。

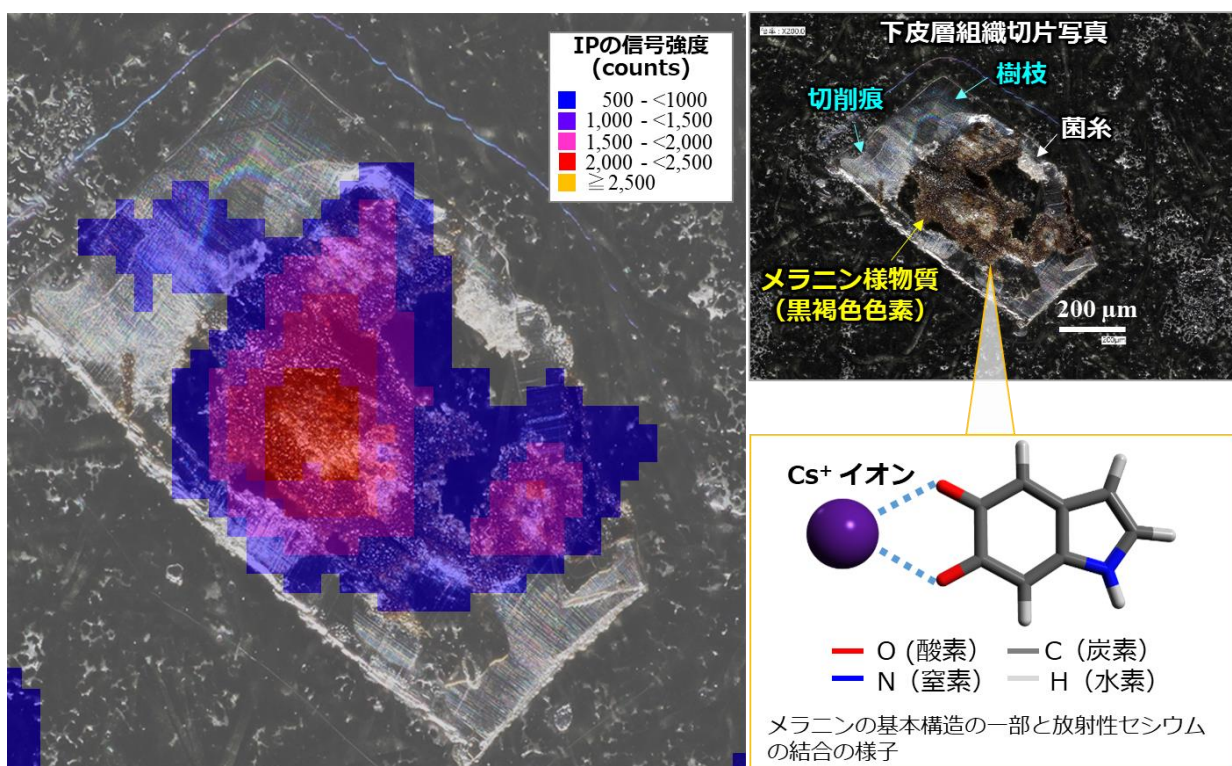


図3 下皮層の組織切片においてメラニン様物質に放射性セシウムが分布する様子。

(2) 地衣類の生体組織内における「点状の分布」

同様に、放射性セシウムが「点状の分布」の場合、地衣類の組織内部、上皮層や髄層組織周辺に放射性セシウムが存在していることが分かりました(図4)。また、電子顕微鏡を用いた直接観察と元素分析の結果から、菌糸が高密度で癒着する上皮層の表面において、数μmの大きさの放射性セシウムを含む粒子の存在が示されました。また、上皮層表面を詳細に観察したところ、組織の一部が同程度の大きさ(数μm)を持つその他の土壌粒子に付着し、一部埋没する状態で捕らわれている様子が見られました(図5)。このことから、放射性セシウムを含む粒子は、上皮層表面に接触した後、菌糸の成長によって埋没することで保持されると考えられました。上皮層表面は亀裂が生じることもあり、放射性セシウムを含む粒子は、髄層内部へ落ち込み物理的に捕われることも考えられました。

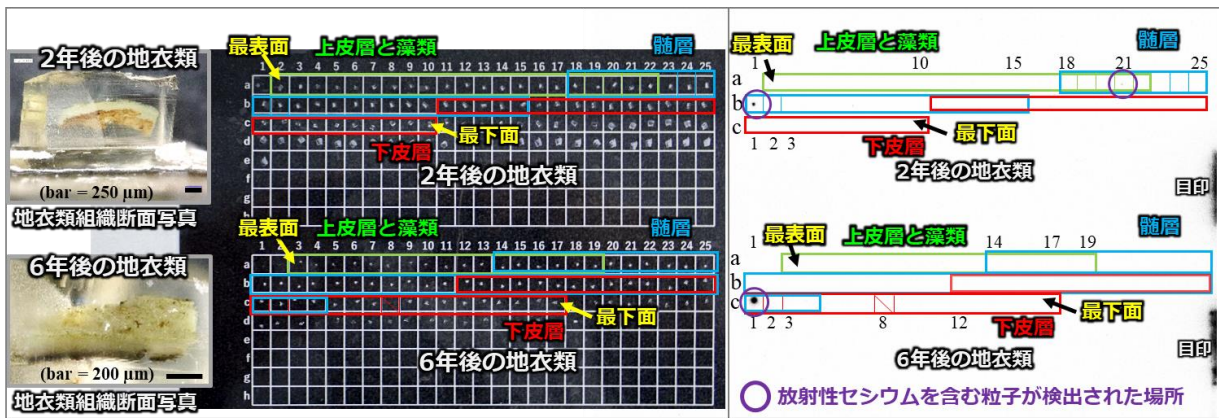


図4 「点状の分布」の断片を組織切片化した試料のIP像。色付きの枠は、それぞれ組織層別の切片を示す（緑色：上皮層と藻類、青色：髄層、赤色：下皮層）。組織内部の髄層や下皮層で放射性セシウムを含む粒子の存在が示された。

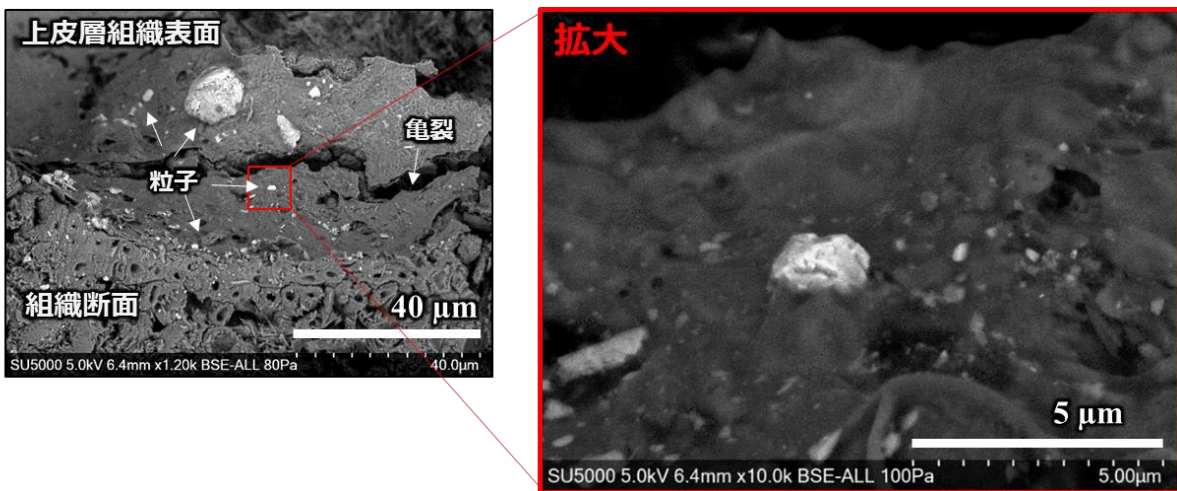


図5 電子顕微鏡で上皮層の表面組織を観察した様子。主に、土壌粒子と思われる多数の粒子（周囲より白く見える粒）が捕捉されているのが認められた。

以上のことから、大気や雨水を通して地衣類に入ってきた放射性セシウムが長期間保持される仕組みを次のように推定しました。「イオン状の放射性セシウムはメラニン様物質と錯形成して安定な化学構造をとることで下皮層に保持される。粒子状の放射性セシウムは菌糸の成長による組織表面への埋没や組織内部での物理的な捕捉で、上皮層から髄層部分で保持される。」

【今後の展望】

本研究では、いつでも採取できて取り扱いのしやすい地衣類を材料に、生体組織内の放射性セシウムのマイクロスケールでの詳細な分布や、その化学形態を調べる一連の手法を確立しました。この手法は、他の環境試料への展開も期待され、これまで実験室下で行われる試験で推定するしかなかった、「本来の環境中での放射性物質の存在状態」の解明に役立つと考えられます。また、イオン状の放射性セシウムの長期間の保持に、メラニン様物質が深く関わっていることなど、放射性セシウムの保持の仕組みを明らかにしました。今回確立したミクロな分布の測定手法や、推定された保持の仕組みは、今後、地衣類だけではなく、キノコや山野草などの森林生態系における放射性セシウムの保持の仕組みや、環境中での放射性セシウムの動態に及ぼす存在状態の影響を明らかにするのに役立つと考えられます。

【論文情報】

【雑誌名】 PLOS ONE

【タイトル】 Accumulation mechanisms of radiocaesium within lichen thallus tissues determined by means of *in situ* microscale localisation observation

【著者 (*責任著者)】 土肥 輝美^{1*}, 飯島 和毅¹, 町田 昌彦², 数納 広哉^{2,3}, 大村 嘉人⁴, 藤原 健壮¹, 木村 茂⁵, 菅野 太志⁶

(所属) 1: 日本原子力研究開発機構 福島研究開発部門、2: 日本原子力研究開発機構 システム計算科学センター、3: 法政大学・情報メディア教育研究センター、4: 国立科学博物館・植物研究部、5: 原子力エンジニアリング (株)、6: (株) ペスコ

【DOI】 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0271035>

【URL】 <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0271035>

【各機関の役割】

日本原子力研究開発機構：論文作成、試料採取、手法開発、分析・解析、量子化学計算

法政大学：量子化学計算、論文作成

国立科学博物館：試料採取・同定、論文作成

原子力エンジニアリング (株)：分析・解析

ペスコ (株)：分析・解析

【参考文献】

[1] Ed. Nimis *et al.*, Monitoring with Lichens - Monitoring Lichens. (2002)

[2] Dohi *et al.*, Radiocaesium activity concentrations in parmelioid lichens within a 60 km radius of the Fukushima Dai-ichi Nuclear Power Plant. 2015. Journal of Environmental Radioactivity (2015) 146 pp.125-133.

[3] Dohi *et al.*, Radiocaesium accumulation capacity of epiphytic lichens and adjacent barks collected at the perimeter boundary site of the Fukushima Dai-ichi Nuclear Power Station. PLoS ONE (2021) 16(5): e0251828

[4] Suno *et al.*, Quantum chemical calculation studies toward microscopic understanding of retention mechanism of Cs radioisotopes and other alkali metals in lichens. Scientific Reports. (2021) 11:8228.

[5] Soudek *et al.*, ¹³⁷Cs and ⁹⁰Sr uptake by sunflower cultivated under hydroponic conditions. Journal of Environmental Radioactivity (2006) 88 pp. 236-250.

[6] Dohi *et al.*, Electron microscopic analysis of radiocaesium-bearing microparticles in lichens collected within 3 km of the Fukushima Dai-ichi nuclear power plant. Environmental radiochemical analysis IV (2019) pp.58-70.

[7] Kim *et al.*, Evidence of porphyrin-like structures in natural melanin pigments using electrochemical fingerprinting. Advanced Materials (2016) 28 pp.3173-3180.

【研究助成】

本研究の一部は、以下の研究助成を受けて行われました。

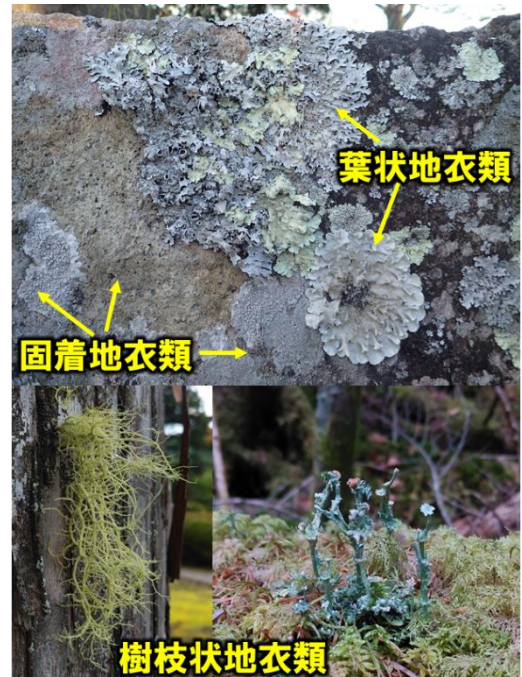
- ・ 科学研究費助成事業の挑戦的萌芽研究 (課題番号: 16K12627)
- ・ (株) 日立ハイテク、日本電子 (株) による電子顕微鏡分析協力

【用語の説明】

※1 地衣類：

地衣類とは、藻類と共生している菌類の総称で、生活圏（岩や樹木の表面、家屋の壁、コンクリート、石造物等）や山地森林、極地、乾燥地など、陸上生態系に広く見られる生物です。1つの場所で固定して成長しますが、成長速度は遅く（年間数mm程度）、寿命は数十年と長生きです。

地衣類は外形で三つのタイプ、葉状地衣類・固着地衣類・樹枝状地衣類に大別されます。「葉状地衣類」は扁平で葉のように薄く広がった形をしており、仮根で基物に付くことで生育します。「固着地衣類」は樹皮や石表面の模様にも見えるもので、下皮層を持たず基物に直接菌糸が入り込み密着して生育します。「樹枝状地衣類」は木の枝のような形をしており、基物表面から立ち上がる、垂れ下がる形で生育します。



※2 イメージングプレートを用いたオートラジオグラフィ法（IP法）：

放射線に感光する特殊なフィルム（IP：イメージングプレート）に観察したい試料を一定時間密着させ、放射線に感光した部分を画像化する装置にIPを読み込ませることで、IPを感光させた放射線の発生源（線源）の位置や分布形状を示す二次元の像が得られます。その像と試料写真を比較すれば、「試料中のどこに放射性物質が存在（分布）するか」、視覚的に容易に理解することができるため、この「IP法」は幅広く活用されています。

※3 デジタルマイクロスコープ：

デジタル顕微鏡。一般的な光学顕微鏡は接眼レンズを通して試料を観察しますが、デジタル顕微鏡は接眼レンズの代わりにカメラで撮影した試料の画像を拡大し、付属のモニターに映し出すことで観察するものです。

※4 イオン状の放射性セシウム：

セシウムはアルカリ金属（ナトリウムやカリウムなど）の一つで、水に溶けると一価の陽イオン（プラスの電荷を持つ）になります。イオン状の放射性セシウムとは、一価の陽イオンの状態の放射性セシウムのことを指します。

※5 メラニン様物質（黒褐色色素）：

メラニンは、ヒトや動物、植物など他種多様な生き物で形成される色素（主に黒色）です。地衣類でも種類によっては、その組織中にメラニンの基本的な構造を持つ色素が存在しており、「メラニン様物質」と言われています。

※6 粒子状の放射性セシウム（放射性セシウムを含む粒子）：

一般的に「粒子」と認識されるもので、放射性セシウムが含まれる粒子を「粒子状の放射性セシウム」「放射性セシウムを含む粒子」と呼びます。例えば、土壌鉱物粒子や、金属粒子、ガラス質の粒子、有機物の集合体などがあります。

※7 量子化学計算：

原子や分子の構造や性質を電子状態から解析する手法であり、原子・分子同士がどれくらいの距離で結合を形成するのか、結合の強さ（結合するために必要となるエネルギーの大きさ）はどのくらいか、を計算できます。膨大な数の原子や分子構造の候補から最適な構造を探していくため、大型コンピューターを用いて行われます。

※8 電子顕微鏡観察：

光学顕微鏡は観察したい試料に光（可視光）を当てることで観察しますが、電子顕微鏡は可視光より波長の短い電子線を当てることで、光学顕微鏡より高い分解能で試料を観察できます。本研究で用いた電子顕微鏡では、電子線が当たった試料から発生するX線のエネルギーや波長を調べることで、試料に含まれる元素が何かを調べることができます。

※9 錯形成：

錯体（原子と分子、イオンと分子、異なる分子同士が結合してできる分子の総称）が形成されること。

【本件に関するお問合せ先】

（研究開発成果）

学校法人法政大学 情報メディア教育研究センター

准教授 数納広哉 Tel:042-387-6128 E-mail:hiroya.suno.73@hosei.ac.jp

（報道担当）

学校法人法政大学

総長室広報課 Tel:03-3264-9240 FAX:03-3264-9639 E-mail:pr@adm.hosei.ac.jp

（研究開発成果）

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構 福島研究開発部門

廃炉環境国際共同研究センター 環境影響研究ディビジョン

技術主幹 土肥輝美 TEL:0247-61-2911 FAX:0247-61-3657

（報道担当）

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構

福島研究開発部門 福島事業管理部 総務課

成田典智 TEL:024-524-1060 FAX:024-524-1069

（研究開発成果）

独立行政法人国立科学博物館

植物研究部 菌類・藻類研究グループ

グループ長 大村嘉人 Tel:029-853-8978 E-mail:ohmura-y@kahaku.go.jp

（報道担当）

独立行政法人国立科学博物館

経営管理部 研究推進・管理課 研究活動広報担当

田中庸照 Tel:029-853-8984 FAX:029-853-8998 E-mail:t-shuzai@kahaku.go.jp