

フジテレビジョン賞

不均一な放射線被ばく後の精子形成能の検討

～原子力災害後の環境放射線被ばくリスクの解明を目指して～

クイーンズ大学ベルファスト大学院
医学博士課程3年

福永 久典

1. 緒 言

2011年の福島における原子力災害発生後から環境放射線被ばくによる健康影響は強く懸念され、今なお一部地域での住民の帰還を妨げている。広島、長崎の原爆被ばく者の疫学データから、積算される実効線量が「100mSv 以下であれば発がんによる死亡率の明確な上昇は見られない」というのが国際放射線防護委員会(ICRP)はじめ国内外諸機関の共通見解であるが、環境放射線のような低線量の放射線被ばくによる健康影響については未だ不明点も多い^{1,2}。広島、長崎の疫学調査に基づいた従来の放射線発がんリスクの推定には科学的限界があり、とくに低線量域でのリスク評価は困難であったため、結果として福島被災地域住民の不安を完全に払拭することができずにいる。こと生殖細胞への環境放射線被ばく影響に至っては、1980年代における英国 Sellafield 原子力発電所に関する疫学的研究や^{3,4}、これまでの動物実験の結果から、次世代以降への放射線影響伝播の可能性が示唆されてきたにもかかわらず^{5,6}、今日に至るまで科学的な検証が乏しかった。本研究では、2011年に開発された「精巣器官培養法による *ex vivo* マウス精子形成系」(図1)⁷と放射光 X 線マイクロビーム⁸を技術的に組み合わせることで、従来不可能であった精子形成細胞に対する不均一な放射線被ばく影響の検討を行った。このような環境放射線被ばく後の生物学的影響のメカニズム解明を通じて、将来的により精度の高い放射線リスクアセスメントを提案していきたい。

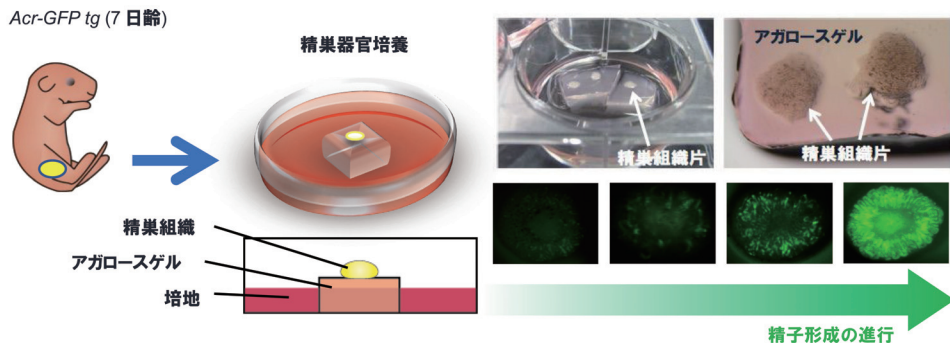


図1. *Acr-GFP* トランスジェニックマウスと精巣器官培養法

アガロースゲル上で培養された精巣組織片で経時的に精子形成が進行する。*Acr-GFP* トランスジェニックマウス (*Acr-GFP tg*) は精子形成(減数分裂)の進行に伴い、精子形成細胞中に GFP を発現する。したがって、蛍光顕微鏡下で GFP 発現を観察することによって精子形成の進行を簡便に判定することが出来る。(Fukunaga, *et al. Radiat Res* 2018一部改変)⁹

2. 研究の背景

2.1 従来の放射線リスクアセスメント ～用量－反応モデル

放射線による生体組織への影響が初めて認識されたのは、1895年のヴィルヘルム・レントゲン博士による X 線発見の直後である¹⁰。1902年には皮膚に生じた放射線発がんが初めて報告され、さらに1911年に放射線業務従事者5名が白血病の診断を受けている¹¹。そして、広島、長崎における我が国の被ばく者の寿命調査(Life span study, LSS)などを含めた放射

線疫学研究の結果から、現在では閾値の有無にかかわらず、これらの放射線による生体影響は被ばく線量に依存していると考えられている¹²⁻¹⁴。今の放射線リスクアセスメントの概念はこのような「用量－反応モデル」に基づく。

実際、米国放射線防護・測定審議会(NCRP)やICRPなどの放射線研究機関の報告や発表によって、40年以上にわたって放射線防護には用量－反応モデルとして「閾値なし直線(Liner non-threshold, LNT)仮説」が採用されてきた^{15,16}。2018年5月にNCRPは声明(Commentary 27)を発表しているが、放射線疫学研究の近年の結果に基づいて、放射線防護体系においてLNT仮説を改めて支持している¹⁷。したがって、2019年現在、環境放射線の被ばくによる健康リスクアセスメントはLNT仮説に基づいて実施されている。これは2011年に我が国で発生した福島第一原子力発電所事故の被災者の健康リスクアセスメントにおいても同様である。

しかし、近年の放射生物学研究の成果から、組織当たりの放射線被ばく量は同じでも生物学的影響の質や量が異なる、用量－反応モデルに反する現象も見出されており、このような差異は微視的にみたときの放射線のエネルギー付与分布の違いなどに起因することが徐々に明らかになってきている¹⁸。

2.2 低線量放射線の不均一なエネルギー付与と放射線誘導バイスタンダー効果

低線量(あるいは低線量率)の放射線による被ばく影響の最大の特徴は、その不均一なエネルギー付与にあるといえる。例えば、生涯発がんリスクを考える際の一つの目安とされている「100mSv」以上の高線量域においては「照射範囲内の全ての細胞を放射線のトラックが1回以上通過する(ヒットする)」と確率的にみなされうるが、一方の低線量域では「放射線がヒットする細胞は全体の一部に留まる」ことになる(図2)。すなわち、照射範囲内に「放射線がヒットする細胞とヒットしない細胞が混在する」という、微視的にみたときに不均一なエネルギー付与分布が生じる²。

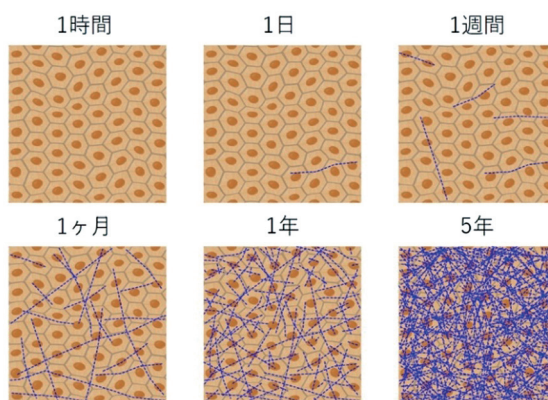


図2. 低線量域の放射線エネルギー付与

放射線トラックを青線で示す。低線量域では、長期間でみると全ての細胞を複数回ずつ放射線トラックが通過するが、短期間でみると組織内において放射線トラックが通過する細胞集団と通過しない細胞集団に分けられる。このように照射範囲において微視的にみたときに不均一なエネルギー付与が生じる。(Fukunaga & Prise, *Environ Health* 2018 一部改変)¹⁹

放射線の作用はエネルギー付与の離散性に依存する。しかし、放射線による生物学的影響の評価は、特定の細胞集団(組織)をターゲットとして、その全体に吸収されたエネルギーを、その全体の質量で割った「平均値」に対して行われるのが一般的である。このようにして求められるマクロな吸収線量には、微視的なエネルギー付与分布の違いが反映されない¹⁸。例えば、不均一な線量分布が生じる低線量域では「実際には放射線が当たった細胞と当たっていない細胞が混在している状況なのに、全ての細胞が放射線に当たったと仮定して平均値で評価する」ことになってしまう。したがって、線量依存的な「用量-反応モデル」では低線量域放射線被ばくによる生物学的影響を推定する際に矛盾が生じてしまう可能性があることは、前世紀中から指摘されていた。

実際、1992年 Nagasawa らは、低線量の α 粒子を培養細胞系に照射したところ、 α 線がヒットしていないはずの細胞にまでもヒットした細胞と同様の放射線被ばく影響(染色体異常など)が認められることを報告した²⁰。この現象は今日では「放射線誘導バイスタンダー効果(Radiation-induced bystander effect, RIBE) (図3)」と呼ばれるが、その効果の大小は線量依存的ではなく、むしろ照射した細胞や溶媒の種類に依存する²¹。すなわち、RIBEは放射線のヒットを直接受けた細胞から何らかのシグナルが周囲に放出され、可溶性成分を介して、あるいは細胞間接触を介して、そのシグナルを周囲細胞(バイスタンダー細胞)が受け取ることで誘発される可能性が考えられている²²。このような低線量域に特徴的な不均一な放射線被ばく後に生じうる細胞間コミュニケーションの分子メカニズムについては、現在も研究者によって検証されている段階であり、明確なコンセンサスはない。このような用量-反応モデルに反する現象の存在が、福島第一原子力発電所事故などの大規模原子力災害後の低線量放射線被ばくのリスクアセスメントをさらに困難にしている²。

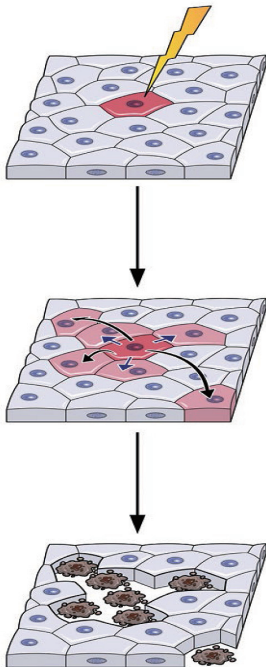


図3. 放射線誘導バイスタンダー効果

放射線が直接ヒットした細胞からその近傍のヒットしていない細胞(バイスタンダー細胞)へ、細胞間シグナルを介して、アポトーシスや染色体異常などの放射線被ばく影響が伝播する。

(Fukunaga, et al. *Tohoku J Exp Med* 2017)²

2.3 空間的分割放射線照射と組織代償反応

臨床においては、不均一照射野内の「組織代償反応(tissue-sparing effect, TSE)」が1世紀以上前から認識されていた。1909年にアルバン・ケーラー博士が、格子状に放射線源を配置して空間的な分割照射を行うという格子放射線治療(grid radiotherapy)により、世界で初めてTSEの臨床観察を報告している²³。すなわちTSEとは空間的分割照射により生じる放射線耐性の獲得を意味する。1995年にブルックヘイブン国立研究所の放射光シンクロトロ

ン実験施設で行われたマイクロビーム放射線治療 (MRT) 研究では、ラット脳組織における TSE が報告された²⁴。MRT 研究はマイクロオーダーレベルで高精度な空間的分割照射を可能とし、TSE の分子メカニズムはまだ解明で用量－反応モデルに反する現象きていないものの、多種多様な生物種および組織で TSE の存在を示してきた²⁵⁻²⁸。このような空間的分割照射による TSE は、臨床応用だけでなく、環境放射線などの不均一な照射被ばく後の生物学的影響においても重要であると思われる¹⁹。

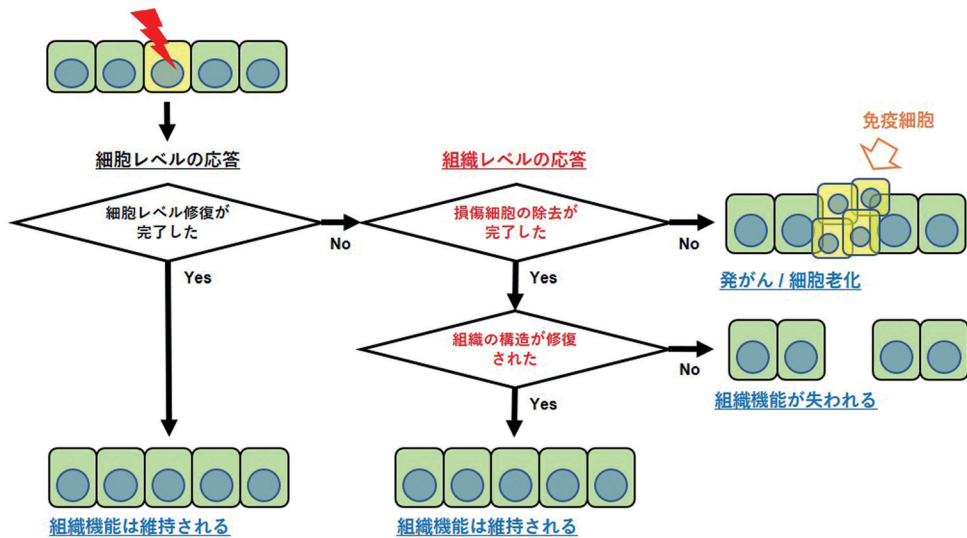


図4. 放射線被ばく後の組織レベルでの修復応答

組織内で放射線が直接ヒットした細胞を修復するための細胞レベルと組織レベルの応答。
(Fukunaga & Prise. *Environ Health* 2019 一部改変)¹⁹

図4のように TSE の潜在的なメカニズムには、アポトーシス細胞の除去、細胞競合組織修復 / 再生などの組織レベルでの複雑な反応が含まれていると想定されている¹⁹。照射後の細胞レベルでの応答 (DNA 修復など) によって、損傷細胞は生き残るか、あるいは組織から除去される。通常、細胞組成の放射線損傷が十分に修復されない場合、とくに DNA 損傷が修復されない細胞は、多細胞生物の細胞除去システムの一つであるアポトーシスによって自殺する。また、不均一照射による損傷細胞は、細胞競合によって隣接する細胞に除去され、結果的に発がんや細胞老化などの異常な状態を回避する可能性もあると考えられている。近年では、がん細胞を除去するために働く免疫系とがん細胞との間には相互作用が注目を集めている。その関連研究領域も急速に広がりを見せており、2018年に「免疫チェックポイント阻害剤の開発」に対してノーベル生理学・医学賞が与えられたことも記憶に新しい。このような除去メカニズムによって損傷細胞が完全に消失した後、通常は組織の恒常性維持のため、欠損組織が修復 / 再生する。そして、組織全体の機能が保たれる。このように放射線被ばくによる損傷を最小限にするための組織レベルでの応答が存在していると考えられ、その組織恒常性維持の一環として TSE が起こりうると考えられる。

3. 雄性生殖幹細胞に対する低線量放射線被ばくリスクの検討

3.1 本研究の着想に至った経緯

筆者は、福島第一原子力発電所事故被災地での臨床と研究を通じて^{1,2,29}、環境放射線の危険性をより正確に推定するためには、時空間的に不均一な放射線場における組織レベルでの生体応答のメカニズムを解明することが求められると考えた。従来、一般的に組織レベルでの放射線誘起生体反応を調査するために用いられてきたのは動物研究である。しかし、それらの研究のほとんどが、空間的に分割されていない全身照射などの均一な放射線被ばくを用いて行われてきた。そのため、環境放射線などの空間的に不均一な被ばく後の組織恒常性反応に関する知識は現在でも不十分である。このことが、例えば、福島第一原子力発電所事故のような大規模原子力災害によって被災した方々ひとりひとりの健康リスクを見積もることを困難にしてきた。

RIBE や TSE を含む低線量放射線被ばくによる生物学的影響の解明のためには、その不均一な線量分布を再現しなければならない。そして、「放射線が直接ヒットした細胞とバイスタンダー細胞を確実に区別しながら、それぞれの挙動を観察する」ということが必要である。しかし、従来の放射線生物学研究で用いられてきた各手法では組織内におけるひとつひとつの細胞の照射後の時空間的挙動解析は技術的に容易ではなかった。高エネルギー加速器研究開発機構にある放射光 X 線マイクロビーム照射装置³⁰などを利用することによって、単一細胞にのみ照射を行うことで「ひとつの細胞集団内に放射線の直接ヒットを受けた細胞とバイスタンダー細胞が混在する環境を作り出し、低線量域における細胞微小環境を模擬する」ことが出来たとはいえ、このような実験設備が国内外を含めて限られた施設にしか存在しなかった事情もある。

雄性生殖細胞はそもそも培養も極めて難しく、生殖機能に対する不均一な放射線被ばく影響を研究することは長い間不可能であった。しかし、2011 年、共同研究者の横浜市立大学小川毅彦教授らの研究グループによって、マウス精巢を用いた器官培養法を応用する形で、「精子幹細胞から生殖能のある精子の形成まで誘導を可能とする *ex vivo* 実験系 (精巢器官培養法)」が世界で初めて開発された (Sato et al. Nature, 2011)⁷。このブレイクスルーによって、放射線マイクロビーム実験系と精巢器官培養法を組み合わせることで、従来では不可能であった雄性生殖細胞に対する低線量放射線被ばく影響の検討が可能になるかもしれないという期待がにわかに現実味を帯びてきた。

3.2 精巢器官培養法の放射線研究への応用

マウス精巢組織を用いた精巢器官培養法では、雄性生殖幹細胞 (精子幹細胞) から精子産生までの完全な精子形成を誘導維持することができる³¹。まず、培地に漬かったアガロースゲル上に 7 日齢前後の雄マウスから摘出した精巢片を置く。さらに、形成の進行を高精度に判定するため、精子形成細胞特異的にマーカー遺伝子を発現する *Acr-GFP* トランスジェニックマウスを用いる³¹。このマウスは減数分裂中期 (パキテン期中期) から細胞質に GFP を発現するため、精子細胞に至る精子完成の過程を蛍光顕微鏡下で容易に観察することが出来る³¹。

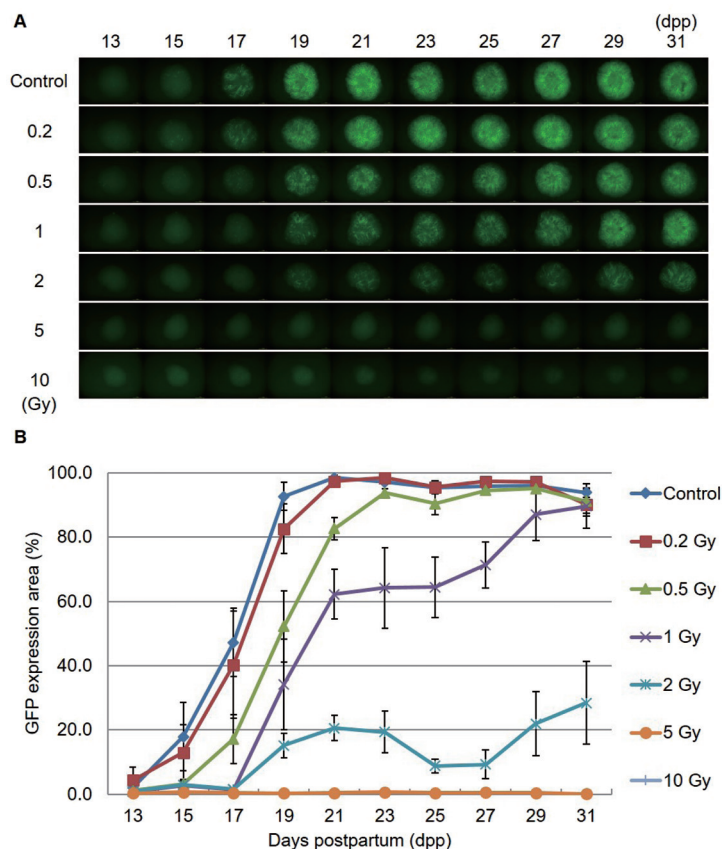


図5. 放射線被ばく後の培養精巣組織片における精子形成効率の経時的変化

培養中の精巣組織全体に均一に放射線を照射した後の GFP 発現を経時的に観察した。Control 群と 1 Gy 照射群は最終的に同じ程度の GFP 発現効率を得たが、照射量の GFP 発現の遅延が有意に認められた。また、1～10 Gy の間においては、線量依存的に GFP 発現の面積が低下している。(Fukunaga, *et al. Radiat Res* 2018)⁹

この実験系を用いて、我々はまず臨床的に既知の放射線被ばく影響を再現できるかどうか検討した。図5は、生後7日目の *Acr-GFP* トランスジェニックマウスから摘出した精巣組織片に対して0 (Control) ～10 Gy の X 線を照射し、生後31日目まで培養した後の GFP 発現の結果である。

0～1 Gy の間では、GFP 発現強度はやや低下するものの、GFP 発現部の面積は肉眼レベルでは明らかな変化を指摘できなかった。しかし、Control 群に比べて1 Gy 照射群は GFP 発現の遅延が有意に認められた。このように「精子形成が全体的に遅延する」現象は臨床的には一時不妊と似た病態を示すものと考えられた。また、1～10 Gy の間においては、線量依存的に GFP 発現の面積が低下した。GFP 発現は精子形成細胞の減数分裂への分化進行を示していることから、1～10 Gy の間では線量依存的に減数分裂まで進行する精子幹細胞の数が減少するものと考えられた。このように「精子形成細胞そのものが減少する」現象は、臨床的には永久不妊と似た病態を示すものと考えられた。

以上により、我々が確立した実験系は、生体内の精子形成に対する既知の放射線被ばく影響(一時不妊や永久不妊)を再現できることが示された⁹。

3.3 放射光 X 線マイクロビームによる不均一な放射線被ばく

次に、我々は放射光 X 線マイクロビーム照射実験施設(高エネルギー加速器研究開発機構)の設備を用いて、放射光 X 線マイクロビーム照射実験を行った。図6は摘出精巣組織片に対して放射光 X 線マイクロビームを照射した後、照射範囲(黄色四角、 $300 \times 300 \mu\text{m}$)の DNA 損傷の程度を γH2AX 染色で検討したものである。

ここで用いた γH2AX は、放射線照射によって DNA 二重鎖切断が生じたヒストンに起きるリン酸化修飾であり、今回は組織内における DNA 損傷部位の検出に利用した。Tra 98 は生殖細胞マーカーである。

図6のように放射光 X 線マイクロビーム照射野とほぼ一致して DNA 損傷が生じており、その境界線が明瞭であると確認できた。すなわち、「照射された培養精巣組織内で、放射線が直接ヒットした細胞集団とバイスタンダー細胞集団を確実に区別しながら、それぞれの挙動を観察することができる」ことが実証できた⁹。

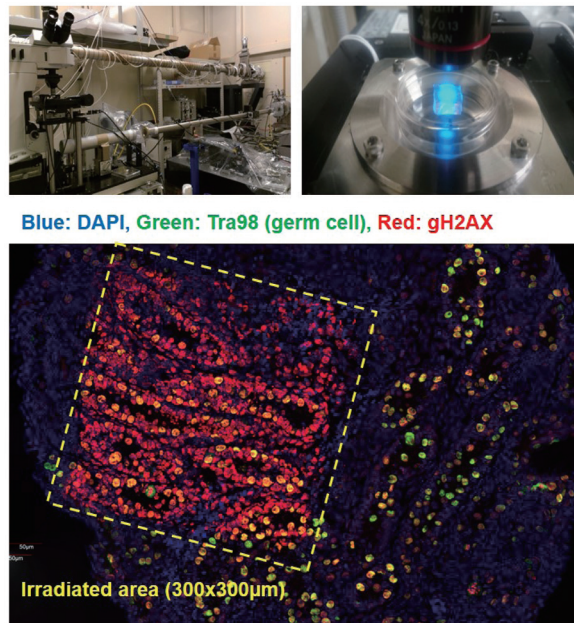


図6. 放射光 X 線マイクロビーム照射装置とその照射精度

照射した培養精巣組織内に、照射範囲と一致して、 γH2AX 染色陽性 Foci 分布が確認できた。(Fukunaga, et al. *Radiat Res* 2018)⁹

3.4 不均一な放射線被ばくによる精巣の組織代償反応

高エネルギー加速器研究開発機構の放射光 X 線マイクロビーム照射装置は照射範囲をマイクロオーダーで自在に操作可能であり、次に我々は図7のように MRT 研究でよく用いられる不均一(すだれ状)照射条件を試みた。

不均一な放射線被ばくを再現するため、精巢体積50%に当たるよう200 μ m 間隔ですだれ状に5 Gy を照射したサンプル(2.5 Gy 換算相当)と、2.5 Gy を全体に照射したサンプルでは、その後の精子形成に明らかな違いが認められた³²。

全体均一照射と不均一(すだれ状)照射は、組織レベルでは同じ2.5 Gy 相当の放射線被ばくであるが、微視的にみたときに放射線によるエネルギー付与分布は明確に異なっている。これは精巢のような生殖機能を司る器官でTSEが生じることを世界で初めて示した実験成果であり、「特定の組織をターゲットとして、その組織全体に吸収されたエネルギーを、その組織全体の質量で割った平均値に対して行う」という従来の放射線生物学概念に対する反例の一つといえる。

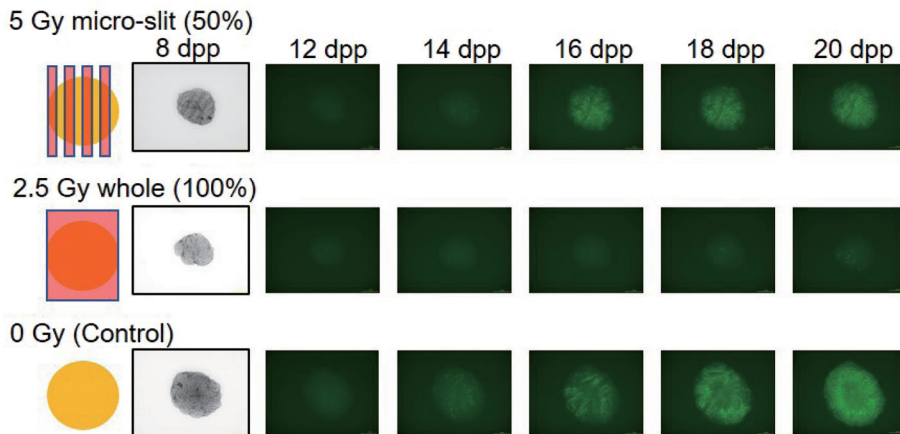


図7. すだれ状マイクロビーム照射後の精子形成。

200 μ m 間隔で5 Gy を照射したサンプル(上段)と、2.5 Gy を全体に照射したサンプル(中段)では、組織レベルでは同じ2.5 Gy 相当の放射線被ばくであるものの、その後の精子形成に明らかな違いが認められた。(Fukunaga *et al. Sci Rep, in press*)³²

4. 今後の展望

1986年のチェルノブイリおよび2011年の福島での大規模な放射線災害以降、長期にわたる低線量被ばくが現在および未来の世代に及ぼす潜在的な健康上の影響が大きな社会的関心事になった。

LSSなどの人口コホート研究に基づく先行放射線疫学データは、技術的な限界と偏向があるものの、被ばくによる固形がん発症の危険度は約100mSvを超える線量で増加すると推定している。しかしながら、これらのデータは、主に原子爆弾による被ばくなどの急性的な被ばく状況に基づくものであり、時空間な線量分布の重み因子を考慮に入れていない可能性がある。実際、我々の精巣器官培養法と放射光X線マイクロビームを組み合わせた研究成果から、「放射線被ばくにおける健康リスクを考える際には、総被ばく線量だけでなく、時空間的な線量分布も重要なのではないか」ということが示唆されている。

残念ながら、MRT技術の開発が行われたのはごく最近のことであるため、不均一照射野に反応するTSEの分子機序はまだ十分に特定されていない。しかし、本研究のこれまでの

結果が示唆するように、環境放射線などの不均一照射被ばく後の組織恒常性を鑑みると、必ずしも「用量－反応モデル」に一致しないような、いくつかの潜在的な生体反応があるように推測される。今後、我々が開発した *ex vivo* 組織培養技術と高精度放射光 X 線マイクロビームを組み合わせる方法により、このような不均一な放射線場における生物学的影響とそのリスクアセスメントに関する理解が今後飛躍的に進展することも期待される。

今回私たちが得たデータの一部は、今後、環境放射線の健康リスクアセスメントの概念に再考を提起するものになるかもしれない。我々の研究成果が、他の研究グループによる放射線生物学研究および疫学研究によってサポートされたならば、「環境放射線被ばくリスクアセスメントには、総被ばく線量だけでなく、被ばくした時空間的条件も重要である」というコンセンサスが将来形成されるだろう。そして、放射線被ばくした集団の中のひとりひとりの時空間的な被ばく条件を検討することで、環境放射線の健康リスクアセスメントに「個別化」の概念が導入されることになると予想している。来たるべき精密医療 (Precision Medicine) 時代に向けて、私たちの研究成果が放射線防護や放射線治療分野での科学的議論を刺激することを願っている。

環境放射線被ばくの健康リスクアセスメントは人類の宇宙での活動にも不可欠である。未来の任務は地球低軌道 (LEO) を超え、地磁気の保護を離れることから、宇宙飛行士が経験する宇宙空間からの放射線被ばくの防護が重要となる。LEO 外を通過する間、数日ごとに陽子線または電子線が宇宙飛行士の体内の全細胞核を通過し、数ヶ月ごとにさらに重い銀河宇宙線重イオン (酸素、ケイ素、鉄など) が通過する。そのような環境での放射線被ばくによる健康リスクアセスメントの精度向上のために、組織レベルでの不均一な放射線被ばくに誘起される生体反応への理解は人類にとって大変重要なものとなるだろう。我々が取り組んでいる不均一な放射線被ばくによる健康影響に関する研究は、現代の原子力災害から地域住民を守る方法を明らかにするだけでなく、未来において人類が宇宙へ進出する時に有用になる基礎的な知見を提供しうるものでもある。

謝 辞

2011 年東日本大震災に伴う福島第一原子力発電所事故後、福島県相馬市の公立相馬総合病院で被災地医療に従事したことがきっかけとなり、放射線健康影響に関する研究を志しました。本研究に取り組む上で、福島原子力災害の被災地でお世話になった方々にいつか成果を還元したいという思いは、私にとって欠かすことのできない心の支えでした。被災地で出会った全ての患者さん、病院スタッフの皆さん、格別の御指導を賜った先生方に対して衷心より感謝申し上げます。

本研究を遂行するにあたり、多くの御指導を賜りました医学博士課程指導教官の Prof. Kevin M. Prise (クイーンズ大学ベルファスト)、横谷明德博士 (量子科学技術研究開発機構)、小川毅彦教授 (横浜市立大学) に心から御礼申し上げます。そして、共に実験に取り組んで頂いた神長輝一博士 (量子科学技術研究開発機構)、佐藤卓也博士 (横浜市立大学) に謹んで感謝申し上げます。

本研究の一部は、丸文財団、金原一郎記念医学医療振興財団、放射線影響協会、科学研究費補助金 (基盤研究 (B)) (研究番号: 15H02823、代表者: 横谷明德) の研究助成を受けて行われました。また、私の英国大学院留学助成として、中山人間科学振興財団、横浜市立大学

医学部同窓会倶進会、三越厚生事業団、クイーンズ大学ベルファスト、から御支援を賜りました。ここに感謝申し上げます。

参考文献

1. Fukunaga, H. & Yokoya, A. Low-dose radiation risk and individual variation in radiation sensitivity in Fukushima. *J. Radiat. Res.* **57**, 98–100 (2016).
2. Fukunaga, H., Yokoya, A., Taki, Y. & Prise, K. M. Radiobiological Implications of Fukushima Nuclear Accident for Personalized Medical Approach. *Tohoku J. Exp. Med.* **242**, 77–81 (2017).
3. Gardner, M. J. *et al.* Results of case-control study of leukaemia and lymphoma among young people near Sellafield nuclear plant in West Cumbria. *BMJ* **300**, 423–9 (1990).
4. Draper, G. J., Stiller, C. A., Cartwright, R. A., Craft, A. W. & Vincent, T. J. Cancer in Cumbria and in the vicinity of the Sellafield nuclear installation, 1963–90. *BMJ* **306**, 89–94 (1993).
5. Dubrova, Y. E., Plumb, M., Gutierrez, B., Boulton, E. & Jeffreys, A. J. Transgenerational mutation by radiation. *Nature* **405**, 37 (2000).
6. Fukunaga, H., Butterworth, K. T., Yokoya, A., Ogawa, T. & Prise, K. M. Low-dose radiation-induced risk in spermatogenesis. *Int. J. Radiat. Biol.* **93**, 1291–8 (2017).
7. Sato, T. *et al.* In vitro production of functional sperm in cultured neonatal mouse testes. *Nature* **471**, 504–7 (2011).
8. Ghita, M. *et al.* Microbeam evolution: from single cell irradiation to pre-clinical studies. *Int. J. Radiat. Biol.* **94**, 708–18 (2018).
9. Fukunaga, H. *et al.* Application of an Ex Vivo Tissue Model to Investigate Radiobiological Effects on Spermatogenesis. *Radiat. Res.* **189**, 661–7 (2018).
10. Daniel, J. THE X-RAYS. *Science*. **3**, 562–3 (1896).
11. Shah, D. J., Sachs, R. K. & Wilson, D. J. Radiation-induced cancer: a modern view. *Br. J. Radiol.* **85**, e1166–73 (2012).
12. Brenner, D. J. *et al.* Cancer risks attributable to low doses of ionizing radiation: assessing what we really know. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **100**, 13761–6 (2003).
13. Kamiya, K. *et al.* Long-term effects of radiation exposure on health. *Lancet* **386**, 469–78 (2015).
14. Ozasa, K., Grant, E. J. & Kodama, K. Japanese Legacy Cohorts: The Life Span Study Atomic Bomb Survivor Cohort and Survivors' Offspring. *J. Epidemiol.* **28**, 162–9 (2018).
15. International Commission on Radiological Protection. The 2007 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. ICRP publication 103. *Ann. ICRP* **37**, 1–332 (2007).
16. Boice, J. D. The linear nonthreshold (LNT) model as used in radiation protection: an NCRP update. *Int. J. Radiat. Biol.* **93**, 1079–92 (2017).
17. National Council on Radiation Protection and Measurements. *Implications of recent epidemiologic studies for the linear nonthreshold model and radiation protection. NCRP commentary No. 27.* (National Council on Radiation Protection and Measurements, 2018).
18. Watanabe, R. Microscopic ener Gy distribution of low-dose radiation. *Radiat. Biol. Res. Commun.* **47**, 335–346 (2012). (Japanese)

19. Fukunaga, H. & Prise, K. M. Non-uniform radiation-induced biological responses at the tissue level involved in the health risk of environmental radiation: a radiobiological hypothesis. *Environ. Heal.* **17**, 93 (2018).
20. Nagasawa, H. & Little, J. B. Induction of Sister Chromatid Exchanges by Extremely Low Doses of α -Particles. *Cancer Res.* **52**, 6394–6 (1992).
21. Blyth, B. J. & Sykes, P. J. Radiation-induced bystander effects: what are they, and how relevant are they to human radiation exposures? *Radiat. Res.* **176**, 139–57 (2011).
22. Prise, K. M. & O'Sullivan, J. M. Radiation-induced bystander signalling in cancer therapy. *Nat. Rev. Cancer* **9**, 351–60 (2009).
23. Schültke, E. *et al.* Microbeam radiation therapy — grid therapy and beyond: a clinical perspective. *Br. J. Radiol.* **90**, 20170073 (2017).
24. Slatkin, D. N., Spanne, P., Dilmanian, F. A., Gebbers, J. O. & Laissue, J. A. Subacute neuropathological effects of microplanar beams of x-rays from a synchrotron wiggler. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **92**, 8783–7 (1995).
25. Laissue, J. A. *et al.* Neuropathology of ablation of rat gliosarcomas and contiguous brain tissues using a microplanar beam of synchrotron-wiggler-generated X rays. *Int. J. Cancer* **78**, 654–60 (1998).
26. Dilmanian, F. A. *et al.* Interlaced x-ray microplanar beams: A radiosurgery approach with clinical potential. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **103**, 9709–14 (2006).
27. van der Sanden, B. *et al.* Tolerance of arteries to microplanar X-ray beams. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **77**, 1545–52 (2010).
28. Bouchet, A. *et al.* Synchrotron microbeam radiation therapy induces hypoxia in intracerebral gliosarcoma but not in the normal brain. *Radiother. Oncol.* **108**, 143–8 (2013).
29. Fukunaga, H. Disaster Management at Soma General Hospital in Response to the Great East Japan Earthquake. *Jpn. Med. Assoc. Journal* **57**, 331–4 (2014).
30. Kobayashi, K., Hieda, K., Maezawa, H., Ando, M. & Ito, T. Monochromatic X-ray irradiation system (0.08–0.4 nm) for radiation biology studies using synchrotron radiation at the photon factory. *J. Radiat. Res.* **28**, 243–53 (1987).
31. Yokonishi, T., Sato, T., Katagiri, K. & Ogawa, T. In Vitro Spermatogenesis Using an Organ Culture Technique. *Methods Mol. Biol.* **927**, 479–88 (2013).
32. Fukunaga, H. *et al.* High-precision microbeam radiotherapy reveals testes tissue-sparing effects for male fertility preservation. *Sci. Rep.* in press.