

ISS きぼう棟内での細胞培養実験による宇宙放射線影響研究

理研 谷田貝文夫*、榎本秀一； 奈良県立医大 高橋昭久、大西武雄； *JAXA 石岡憲昭**、大森克徳； 日本宇宙フォーラム 嶋津徹、鈴木ひろみ**； **鹿児島大 院歯学総合

Studies of Space Radiation Influences : An Experiment of Cell culture in Kibou of ISS

Fumio Yatagai and Shuichi Enomoto*

RIKEN Institute, Wako-shi, Saitama 351-0198

E-Mail: yatagai@riken.jp, E-mail: semo@riken.jp

Akihisa Takahashi and Takeo Ohnishi

Nara Pref. Med. Univ. Kashihara-shi, Nara 634-8521

E-mail: atakahas@narmed-u.ac.jp, E-mail: tohnishi@narmed-u.ac.jp

*Noriaki Ishioka** and Katsunori Ohmori*

*Inst. Space Astronaut. Sci., Japan Aerospace Exploration Agency, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8505

E-mail: ishioka.noriaki@jaxa.jp, E-mail: ohmorii@jaxa.jp

*Toru Shimazu and Hiromi Suzuki***

Japan Space Forum, Chiyoda-ku, Tokyo104-0004

E-Mail: shimazu@jsforum.jp, E-Mail: suzuki@jsforum.jp

**Kagoshima Univ. Graduate Sch. Med. Dental Sci., Kagoshima-shi, Kagoshima 890-8544

Abstract: This paper is aimed to introduce how our developing methodologies for both loss of heterozygosity (LOH) analysis and DNA double-strand break (DSB) repair estimation are applied to detect the biological effects of space radiation. Our space experiments using human cultured cells in Kibou Facility of International Space Station (ISS) are planned to detect mutagenic effects (i), combined effects of radiation with micro gravity (ii), and radioadaptive response (iii). After cell recovery to the earth, we plan to do the following approaches for the above three biological effects: i) an LOH analysis for the mutants induced after the incubation of recovered frozen-cells exposed to low-dose space radiation during the 3 months preservation in ISS, ii) an examination for the existence of combined effects by comparing the mutation inductions between the cells incubated in ISS for ~1 week under 1G and those incubated under μ G, and iii) an estimation of the radioadaptive response from determination of the repair efficiencies of DSB introduced at the specific site of chromosome in the recovered cell.

Key words; space radiation, microgravity, human cells, LOH, adaptive response

宇宙環境は微小重力に象徴されている。しかしながら、低線量かつ低線量率の宇宙放射線による被ばくの影響も見逃してはならない。宇宙放射線の被ばくによる影響は、直接的なものと同接的なものに大別される¹⁾。宇宙放射線には重粒子成分が含まれ、細胞の染色体DNAに重篤な損傷を引き起こされるが、被ばくが極めて低線量なので、高感度検出が重要となる。今回の宇宙実験(図1)では、染色体レベルでの異常として遺伝的に確定した状態、すなわち、LOH (Loss of Heterozygosity)を主な指標として直接効果の検出を試みる。もう一方では、DNA損傷によって引き起こされる細胞内の反応、いわゆる、間接効果の検出も大切である。低線量の放射線被ばく後の間接効果としては、適応応答、バイスタンダー効果、染色体ゲノム不安定性などがあげられるが、今回の実験では、適応応答を的を絞ることとした²⁾(図1)。適応応答とは、予め低線量の放射線を被ばくした細胞が、次の大線量の放射線に対して抵抗

性を獲得し、大線量放射線による突然変異誘発の頻度を低下させる現象である。

私たちは、ヒトリンパ芽球TK6細胞のLOH検出系を確立し³⁾、染色体レベルだけでなく遺伝子レベルでの変異誘発も検出が可能で、放射線の遺伝的影響を調べるには格好な系であることを実証してきた⁴⁾。薬剤耐性を指標にして選択した変異細胞から染色体DNAあるいはmRNA抽出を行い、PCR法などでDNA断片を増幅し、シーケンサーによって変異部位を同定する系である。この系を利用して、培養液中の浮遊状態のTK6細胞に炭素イオン 100mGyを照射した場合だけでなく、凍結した細胞に同線量の照射をした場合も、LOHの誘発として放射線照射の影響を高感度に検出できることを明らかにした⁵⁾。従って、凍結状態でスペースシャトルに積み込んで打ち上げ、ISSのきぼう棟内で長期間保持した細胞を地上に持ち帰り、培養後に誘発される変異体のLOH解析をすれば、重力影響を含まない、低線量の宇宙放射

線の遺伝的影響(直接効果)を推測することが可能と考えられる。すなわち、重力影響を切り離して、放射線被ばく影響だけを推測する系の確立を意味する。また、きぼう棟内で、凍結細胞を解凍して1Gあるいは μ Gで培養し、再凍結後に地上に持ち帰り、LOH解析した結果を両者間で比較すると、重力効果の影響を推測することも可能と考えられる。培養無しで凍結保持しただけの場合と比較すれば、放射線と微小重力との複合効果についてのデータも取得できるであろう。

さらに、ISSに長期間、凍結保持した細胞を地上回収後に、染色体の特定部位にDNA2重鎖切断(DSB)を導入し、DSBの修復効率の測定を試みる。地上で凍結保持した細胞に同様の処理をした場合と比較して、DSBの修復効率が高くなる可能性、つまり、適応応答(間接効果)の誘導についても確かめられる。すでに、地上実験で、低線量のX線や γ 線の予めの照射によってDSB修復効率の上昇、すなわち、適応応答効果が検出できたこと⁶⁾から、今回の宇宙実験での解析結果に期待がかかる。

参考文献

- 1) 谷田貝文夫, 高橋昭久, 本間正充, 鈴木ひろみ, 大森克徳, 関真也, 橋爪藤子, 島津徹, 榎本秀一, 大西武雄, 石岡憲昭, “きぼう”での生物実験に向けて: LOH

解析による宇宙放射線の生物影響の検討”, 日本マイ

クログラフィティ応用学会誌, **25**, 695-700 (2008).

- 2) Yatagai, F., Umabayashi, Y., Honma, M., Sugawara, K., Takayama, Y., and Hanaoka, F.: Mutagenic radioadaptation in a human lymphoblastoid cell line. *Mutat. Res.*, **638**, 48-55 (2008).
- 3) Morimoto, S., Kato, T., Honma, M., Hayashi, M., Hanaoka, F., and Yatagai, F.: Detection of genetic alterations induced by low-dose X-rays; analysis of loss of heterozygosity for TK mutation in human lymphoblastoid cells., *Radiat. Res.*, **157**, 533-538 (2002).
- 4) Umabayashi, Y., Honma, M., Suzuki, M., Suzuki, M., Abe, T., Suzuki, H., Shimazu, T., Ishioka, N., Iwaki, and Yatagai, F.: Mutation induction in cultured human cells after low-dose and low-dose-rate γ -ray irradiation: Detection by LOH analysis. *J. Radiat. Res.*, **48**, 7-11 (2007).
- 5) Umabayashi, Y., Honma, M., Abe, T., Ryuto, H., Shimazu, T., Ishioka, N., Iwaki, M., and Yatagai, F.: Mutation induction after low-dose carbon-ion beam irradiation of frozen human cultured cells. *Bio. Sci. Space*, **19**, 237-241 (2005).
- 6) Yatagai, F., Suzuki, M., Ishioka, N., Ohmori, H., and Honma, M., “Repair of I-SceI Induced DSB at a specific site of chromosome in human cells: Influence of low-dose, low-dose-rate gamma-rays”, *Radiat. Environ. Biophys.* **47**, 439-444 (2008).

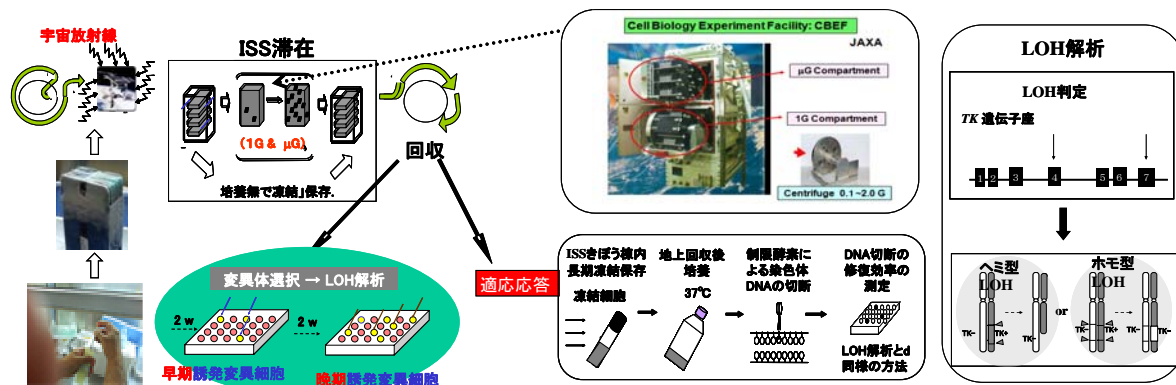


図1 宇宙実験の概略 (本文参照)

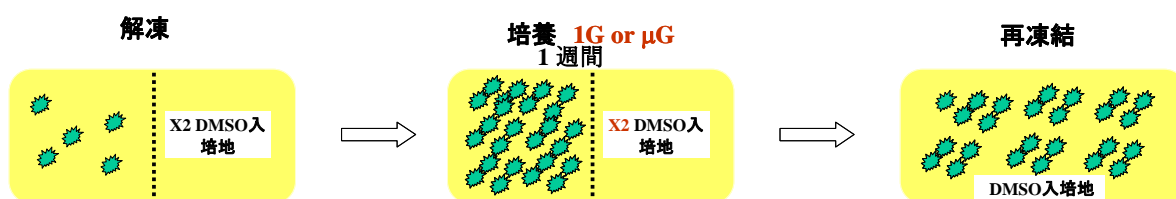


図2 きぼう棟内での細胞培養実験の概略 (本文参照)