

宇宙放射線と重力環境変化による複合影響研究 2020 年報

高橋昭久 (群大重粒子), 鈴木健之 (量研・放医研), 鶴岡千鶴 (量研・放医研), 森岡孝満 (量研・放医研), 武島嗣英 (量研・放医研), 吉田由香里 (群大重粒子), 中村麻子 (茨大・院), 池田裕子 (近畿大), 秦恵 (Prairie View A & M Univ), 永松愛子 (JAXA), 大平充宣 (同志社大), 稲富裕光 (JAXA), 柿沼志津子 (量研・放医研)

Research on Combined Effects of Space Radiation and Variable Gravity – 2020 Annual Report –

TAKAHASHI Akihisa*, SUZUKI Kenshi, TSURUOKA Chizuru, MORIOKA Takamistu, TAKESHIMA Tsuguhide, YOSHIDA Yukari, NAKAMURA Asako, IKEDA Hiroko, HADA Megumi, NAGAMATSU Aiko, OHIRA Yoshinobu, INATOMI Yuko, KAKINUMA Shizuko

*Gunma University Heavy Ion Medical Center, 3-39-22 Showa-machi, Maebashi, Gunma 371-8511, Japan

E-Mail: a-takahashi@gunma-u.ac.jp

Abstract: The goal of this study is an acceptance of 2021 Research Solicitation for Feasibility Study of Science Research utilizing the Japanese Experiment Module "Kibo". We will try to the study of carcinogenesis under tail-suspension and hyper-gravity after irradiation in mouse models, and verify the possibility of space experiments. Completion of this proposed experiments will allow us to evaluate the cancer risk of not only space radiation but also gravity and to reduce the uncertainties in risk assessment. We'll verify whether we can prevent the progression of cancer by temporal loading as a countermeasure against tumor progression in space. We hope our project will contribute to the safety of space mission and overcoming cancer. For near future experiments in Gateway and base camps on the Moon, we will try to establish the high sensitive assay system for carcinogenesis. In addition, we operated the Simulator of the environments on the Moon and Mars with Neutron-irradiation and Gravity-change (SwiNG) as a platform of space radiation research. Here, we report on the progress of this year.

Key words; Combined effects, Space radiation, Variable gravity, Cancer progression, Simulator.

1. 研究の背景

加齢とともに発がん率は、指数関数的に増加する。地上で長期間の加齢に伴う老化の過程が、宇宙では短期間で進行することが知られている。がんの進行過程では、細胞ががん化し、増殖して診断可能になるまでに、多くのがん細胞が免疫機能によって排除されている。しかし、宇宙空間においては、地上の高齢者に類似した免疫機能の低下が急速にあらわれる (Akiyama *et al*, *npj Microgravity*, 6:14, 2020)。また、尾部懸垂マウスモデルは、後肢の筋骨格系への体重負荷がなく、頭部への体液移動、活動範囲の制約のためのストレスなど宇宙環境の一部を模擬していることが知られているが、胸腺や脾臓など免疫系器官の萎縮が起こることも明らかにされている (Wang *et al*, *Proc Natl Acad Sci USA*, 104:14777-82, 2007)。この尾部懸垂 3 日後にがん細胞を移植すると、コントロールと比べて、腫瘍が大きくなることが報告されている (Lee *et al*, *Aviat Space Environ Med*, 76:536-40, 2005)。この時、後肢が接地するように尾部を保定したマウスでは、コントロールと腫瘍の大きさに違いは認められていない。そのため、尾を保定したことによる活動範囲の制約ストレスの影響ではないことが確認されている。また、

尾部懸垂の時だけ、脾臓の重量が軽くなる。さらに、免疫不全マウスを用いると、尾部懸垂とコントロールいずれも腫瘍は大きくなり、両者に違いは認められないことが示された。これは腫瘍の増殖亢進に免疫能の低下が関与していることを示しており、尾部懸垂によって免疫能の低下が起きたことを示唆する結果である。我々も異なるマウスの系統、がん細胞を用い、尾部懸垂モデルにおける腫瘍の増殖亢進を再現するとともに、コントロールに比べて、肺転移も増えることを見出し、がんの進行が早まることを確認した。さらに、面白いことに、1 日 2 時間、尾部懸垂をキャンセルすると脾臓・胸腺重量および腫瘍の増殖と転移数がコントロールと変わらないことを見出した (Takahashi *et al*, *Int J Mol Sci*, 19: 3959, 2018)。この結果から、重力負荷または機械的ストレスによって、宇宙でのがんの進行を防御する方法の提案につながると考えている。

さらに、我々は 3D クリノスタット装置を用いた疑似微小重力下の X 線および重粒子線同期照射システムを新たに開発した (Ikeda *et al*, *Biol Sci Space* 30: 8-16, 2016; Ikeda *et al*, *Life Sci Space Res* 12: 51-60, 2017)。この装置を用い、遺伝子発現解析を行い、放射線と疑似微小

重力の同時曝露により細胞周期が正しく停止せず、DNA 損傷が正しく修復されないままゲノム不安定を示唆する結果を得ている (Ikeda *et al*, *Int J Mol Sci* 20:4791, 2019). さらに、接着細胞でも浮遊細胞でも疑似微小重力下照射された細胞は静置下照射された時と比べて、X線および重粒子線のいずれにおいても染色体異常頻度が高くなることを見出している (Hada *et al*, *Int J Mol Sci*. 20: 43, 2019; Yamanouchi *et al*, *Life* 10:187, 2020).

これまでの宇宙有人ミッションによるがん死リスク評価はどんな宇宙放射線にあたったのかという線質と、どれだけあたったのかという線量で推定されてきた。我々はがん死リスクを正しく評価するために、宇宙放射線と重力変化の複合影響を明らかにすることが必要と考えている。

2. 本フロントローディングの狙い

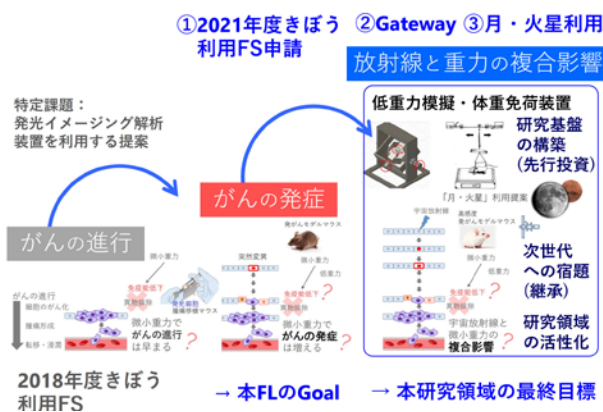


Fig. 1. 本フロントローディングの狙い

我々はがん細胞移植マウスを用いた「微小重力でがんの進行は早まるのか」というテーマで2018年度JAXA きぼう利用フィジビリティスタディ研究に採択され、宇宙実験の実現と成功を目指して準備をすすめている。本フロントローディングのゴールは発がんマウスを用いて、「微小重力でがんの発症が増えるのか」を宇宙実験で確かめることである。言い換えると「がんが大きくなる」ことから「がんが出来る」ことに一歩踏み込み、地上模擬実験でエビデンスを取得し、来年度のフィジビリティスタディ申請を目指している (Fig. 1).

さらに、Gateway, 月・火星の深宇宙でこそ、「宇宙放射線と重力環境変化による複合影響」を調べるべき「発がん研究」の実験場と考えているが、深宇宙でいつ実験できるのかは不確定である。それでもその日に備え、次世代への継承と、研究基盤の構築のため、大きなビジョンを領域として共有し、発展的に科学的な Gap を埋め、国際プレゼンスを高めることを狙っている (Fig. 1).

3. 2020 年度の進捗状況

3.1. *in vitro* 実験 : SwiNG 装置の性能評価

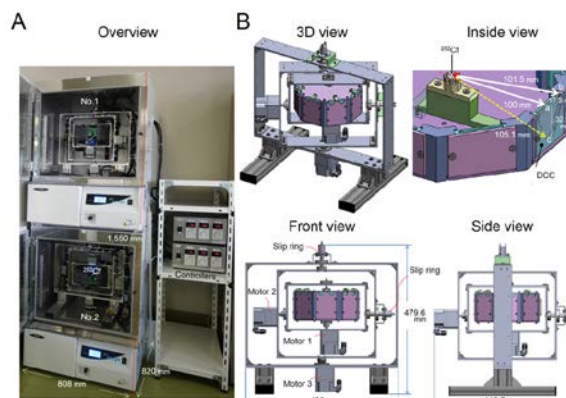


Fig. 2. 月や火星の地上模擬実験装置 (SwiNG) の概要

地上で月や火星の低重力・低線量率放射線長期照射環境を模擬した装置 (SwiNG: **S**imulator of the environments on the Moon and Mars **w**ith **N**eutron-irradiation and **G**avity-change)を開発した (Takahashi *et al*, *Life* 10:274, 2020). 低重力環境は、搭載試料が重力刺激を受ける前に直交する2軸により3次元回転させることで、重力方向を連続的に変化させる。この重力影響を打ち消すことができる3Dクリノスタット装置に、1軸追加し、この遠心力を加算することで実現した。また、この遠心機の中心に²⁵²Cf (3.7 MBq)の法規制対象外中性子線源を格納し、宇宙空間に近い低線量率で連続照射可能にした。

検証1: 線量率測定



Using film badge, measured radiation dose equivalent of control sample and irradiation sample for 24 hours.

	Control samples	Irradiation samples
Incubator of SwiNG	No. 1	No. 2
Neutron*	ND	10.8 ± 0.0 mSv
Total dose rate†	ND	1.08 ± 0.00 mGy/day

Measurement date, 18-21 March, 2020. *1 cm dose equivalent. ND, not detect. †The dose rate was determined from the dose equivalent. The radiation weighting factor of neutron (²⁵²Cf, 2.1 MeV) was calculated as 10 [ICRP Publication 92].

Fig. 3. SwiNG の線量率測定結果

本年度は性能評価として、一つはフィルムバッジ (Radiophoto-luminescence EN, Chiyoda Technol Co., Tokyo, Japan)を使った線量率測定を行い、深宇宙空間に近い1 mGy/dayの低線量率中性子連続照射できることを確認した (Fig. 3) (Takahashi *et al*, *Life* 10:274, 2020).

これ以外にも、宇宙での使用実績のある PADLES を用いて線量率の解析中である。

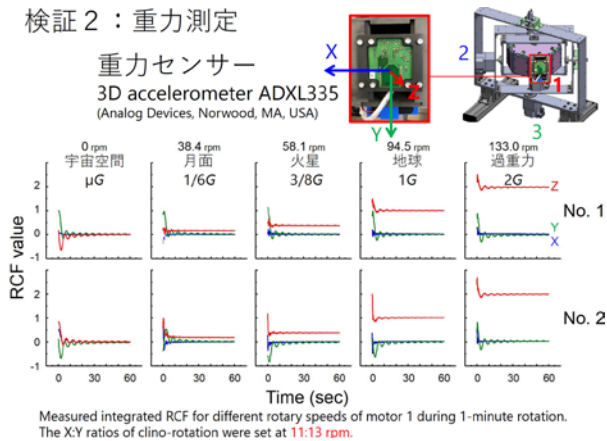


Fig. 4. SwiNG の重力測定結果

本装置の遠心機は中心からサンプルまで 10 cm の距離であり、この値から推測された回転数でのサンプルの X, Y, Z 方向における相対遠心力 (RCF: Relative centrifugal force) の継時的変化を 3D accelerometer ADXL335 (Analog Devices, Norwood, MA, USA) を用いて調べた。その結果、シミュレーションどおりの回転数の設定で回転から約 20 秒後には目的の重力に安定することが計測された (Fig. 4) (Takahashi *et al*, Life 10:274, 2020)。

この装置を用いて、各重力と放射線照射の有無の条件で、3 時間曝露後に RNAseq による遺伝子発現解析用にサンプリングした。現在、解析中である。

本装置を新たなプラットフォームとして利用することで、宇宙放射線研究領域の深化、活性化が期待される。

3.2. *in vivo* 実験 : がん発症・進行研究

発がんモデルマウス

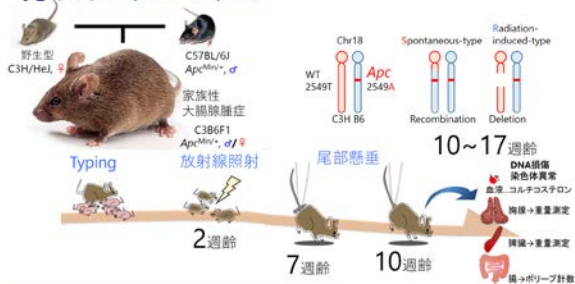


Fig. 5. 発がんモデル Min マウスによる実験概要

我々が用いた発がんモデルマウスは、これまで JAXA の宇宙実験でも用いられている C57BL/6J のがん遺伝子のアレルの一つ Min が変異した C57BL/6J *Apc*^{Min/+} マウスのオスと C3H/HeJ のメスとを掛け合わせた F1 マウスである。F1 を用いることで自然発がんのバックグラウンドが抑えられ、腸に複数の腫瘍を形成することから少ない匹数で発がんを調べること

とができ、腫瘍サイズを調べることでがんの進行も調べることができる好都合なモデルである。先行研究で放射線の影響が出やすい 2 週齢で放射線照射し、宇宙での微小重力を模擬するため、7 週齢から 3 週間尾部懸垂を行った。昨年度、尾部懸垂直後では、照射の有無にかかわらず、胸腺と脾臓が萎縮した。照射によって、腸腫瘍の数、量が増加するものの、照射の有無にかかわらず、尾部懸垂によって、腸腫瘍の数、サイズ、量ともに有意差は得られなかった。

そこで、本年度は 3 週間の尾部懸垂後、さらに通常飼育を 5 週および 7 週間行う計画に変更し、いわば宇宙ミッションから帰還したマウスの発がんを模擬することにした。Min マウスを用いた先行研究では週を増す毎に腫瘍の増大が見られることがわかっているため、観察期間を延長することで、より尾部懸垂の影響を捉えられる可能性があると考えた。

その結果、照射の有無にかかわらず、尾部懸垂から 5 週、7 週と期間が開くと、免疫系器官の萎縮が回復し、特に脾臓ではさらに肥大することが認められた。尾部懸垂 5 週後において、照射の有無にかかわらず、腸の腫瘍数に有意差は得られず、むしろサイズが小さくなることが認められた。さらに、尾部懸垂 7 週後でも照射の有無にかかわらず、腸の腫瘍数、サイズ、量に有意差は得られなかった。宇宙ミッションから帰還したマウスの発がんを模擬した観察延長を行ったが、当初の目的の尾部懸垂による腫瘍の数や量の増加を認められなかった。

これまでの宇宙実験と同じような 7 週齢以降のマウスを用い、3 週間程度の宇宙滞在での発がんモデル実験では微小重力の影響が見られない可能性があり、実験方法の改善の必要性が顕在化することができた。

4. 今後の課題

4.1. *in vitro* 実験 : SwiNG による生物影響評価

SwiNG を用いた遺伝子発現解析や、染色体異常試験等の生物実験で、低線量率放射線と重力変化による複合影響評価を行う。

4.2. *in vivo* 実験 : がん発症・進行研究

発がんモデルマウスを用いた①尾部懸垂の早期実施 (例えば 4~7 週齢での実施)、または、②尾部懸垂期間の延長(または座骨神経切断)による後肢からのメカニカルストレスフリー期間の延長の検討(例えば 4~10 週齢での実施)が必要と考える。

ただし、①では若齢マウスを用いた宇宙実験がこれまで JAXA に経験が無いこと、②ではこれまでの JAXA による宇宙でのマウス飼育期間の 2 倍近く延長となることから、地上模擬実験でそれぞれの科学的な必要性についてのエビデンスを取得した上で、フィジビリティスタディ申請を行い、宇宙実験の実現と成功を目指す。