

# ISS きぼうでのヒト神経培養細胞に対する宇宙放射線研究 Neuro Rad 実験

鹿児島大学 馬嶋秀行、犬童寛子

宇宙航空研究開発機構 石岡憲昭、矢野幸子、谷垣文章

日本宇宙フォーラム 鈴木ひろみ、嶋津 徹

有人宇宙システム株式会社 梶田大輔

## Space experiment on human neuron like cells "Neuro Rad" at ISS, Kibo

Hideyuki J Majima<sup>1,2,4</sup>, Hiroko P Indo<sup>1</sup>, Noriaki Ishioka<sup>2,4</sup>, Hiromi Suzuki<sup>2,3</sup>,  
Toru Shimazu<sup>3</sup>, Sachiko Yano<sup>4</sup>, Fumiaki Tanigaki<sup>4</sup> and Daisuke Masuda<sup>2,5</sup>

<sup>1</sup> Department of Oncology and <sup>2</sup> Department of Space Environmental Science,  
Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima, Kagoshima  
890-8544

<sup>3</sup> Japan Space Forum, Chiyoda, Tokyo 100-0004

<sup>4</sup> Japan Aerospace Exploration Agency, Tsukuba, Ibaraki 305-8505

<sup>5</sup> Japan Manned Space Systems Corporation, Tsuchiura, Ibaraki 300-0033

E-Mail: hmajima@dent.kagoshima-u.ac.jp

**Abstract:** Space environmental condition composed of micro gravity and space radiation, of which dose is at least one hundred times more compared with those on the earth. Long-term manned space mission inevitably receive space radiation exposure and microgravity might give a synergistic effect on those space radiation effect. Human SK-N-SH cell is a slow growing neuron like cells, of which p53 status is normal. We send the cells to International Space Station, Japan Experimental Module (JEM), namely "Kibo" by STS131(19A) and cells were cultured at 37°C with 1G or  $\mu$ G condition for 14 and 28 days at CBEF. Then cells were fixed and stored at -80°C. The cells were returned by STS132 (ULF4). The frozen samples were transported to "Tsukuba Space center", and then brought them to Kagoshima University. Now, gene expression analysis was started using the sample. Mitochondrial impairment will be also examined using the same samples.

宇宙では、宇宙放射線および微小重力の環境にあり、これらの影響の評価を行う必要がある。ヒト神経細胞種由来 SK-N-SH 細胞は、神経細胞の特徴をもつ増殖が遅い株化細胞である。この細胞は STS131(19A) にてケネディースペースセンターから打ち上げられ、国際宇宙ステーション (ISS) 日本実験棟 (きぼう) 上の細胞培養装置 (CBEF) 上にセットされ、1G および  $\mu$ G にて 37°C にて培養が開始された。14 日間ないしは 28 日間培養を行い、その後固定された。すぐ凍結され、細胞は、凍結のまま STS132(ULF4) に搭載され帰還した。すぐさま筑波宇宙センターに送られたサンプルは、その翌日鹿児島まで運ばれた。サンプルは現在遺伝子発現、ミトコンドリア遺伝子障害等を中心に解析中である (Fig. 1)。



Figure 1. Neuro Rad Experiments<sup>1,2)</sup>

放射線照射により生ずる活性酸素は主にミトコン

ドリアから発生し、DNA や mtDNA に障害を与えることを証明してきた (Fig. 2)<sup>3,4)</sup>。宇宙環境でも放射線のみならず微小重力も相乗効果として影響することが考えられている。

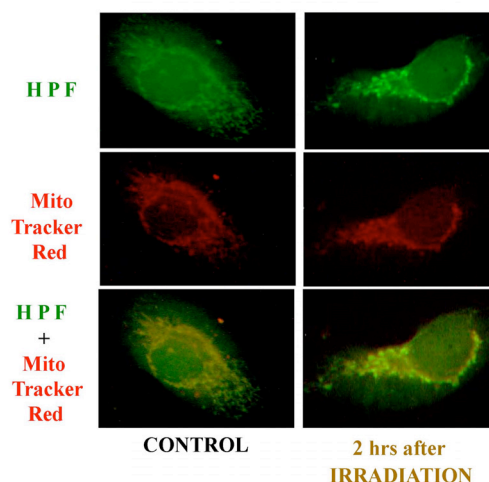


Figure 2. Reactive Oxygen Species (ROS) Detection by HPF Dye Following X-irradiation.

これまでの遺伝子解析の結果、宇宙環境におけるような低線量放射線照射によりヒト神経細胞種由来細胞は細胞内酸化ストレスが上昇し、アポトーシス関連遺伝子をはじめとする少なくとも一部の遺伝子発現の減少、すなわち癌化及び神経障害のポテンシ

ヤルを増加させるような遺伝子発現変化が認められた(Fig. 3)。

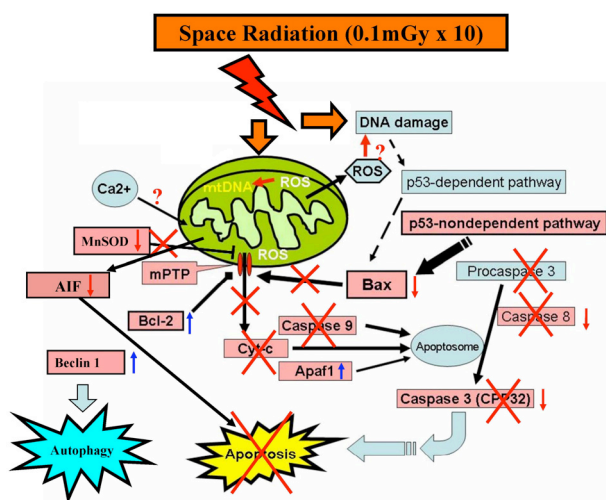


Figure 3.

宇宙環境では、宇宙線被曝に加えて微小重力環境にある。微小重力は、地球に生まれ育った生命体にとって今まで経験していない環境である。微小重力が酸化ストレスを誘発する報告もある。また、宇宙線と微小重力が相乗効果を伴い、人体に影響する可能性も高い<sup>5)</sup>(Fig. 4)。

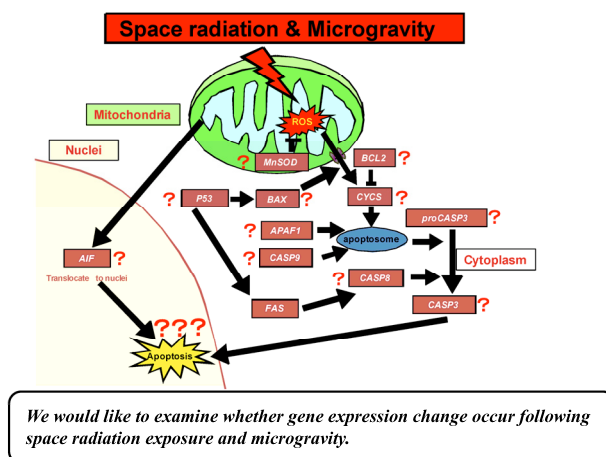


Figure 4.

我々の宇宙研究プロジェクト課題名は「宇宙放射線と微小重力の哺乳類細胞への影響」で、コードネームは Neuro Rad である<sup>6)</sup>。我々の実験プロジェクトは、ヒト神経由来細胞 SK-N-SH を用い、ISS に2週間および4週間まで37℃にてカルチャーさせる搭載実験であった。

解析は DNA アレイ解析によりミトコンドリア関連遺伝子、酸化ストレス関連遺伝子、アポトーシス関連遺伝子についてスクリーニングを行い、また、Western Blotting によりタンパク質解析も行う。スクリーニングの結果より得られた遺伝子について RT-PCR により遺伝子解析を行っていく(Fig. 5)。

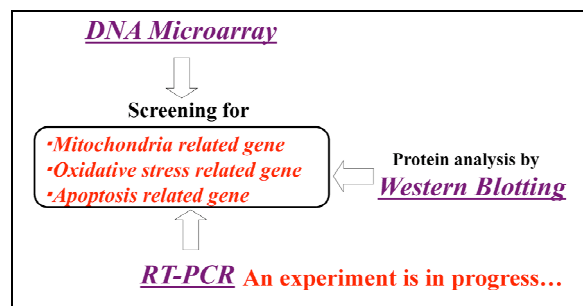
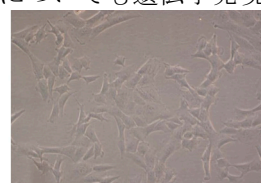
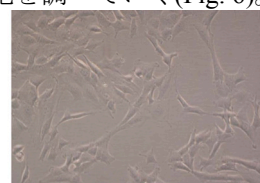


Figure 5. Analysis of RNA later fixed cells

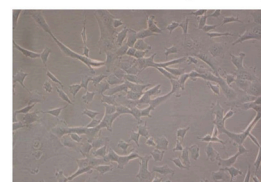
宇宙より戻ってきた細胞について再培養した細胞についても遺伝子発現の変化を調べていく(Fig. 6)。



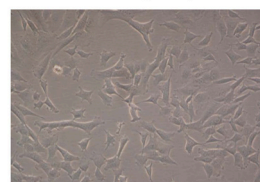
Short term - 1G (NE114)



Short term -  $\mu$ G (NE164)



Long term - 1G (NE214)



Long term -  $\mu$ G (NE264)

Figure 6. Images of Recultivated cells

再培養した細胞について解析を進めている。MnSOD 活性と Growth curve について解析中である。MnSOD 活性については、地上 Control 群に対して、宇宙再培養群が高い傾向を示した。Growth curve については、地上 Control 群に対して宇宙再培養群が Doubling time が小さくなる傾向を示した。これらについてはさらに検討を進めていく。

これらの研究成果は、人類が長期宇宙滞在を行なうにあたってのリスクを理解することに役立つと考えている。Neuro Rad 宇宙研究プロジェクトを今まで支えてくださった関係各位に感謝いたします。

#### 参考文献

- 1) [http://iss.jaxa.jp/library/video/spacnavi\\_wn100519.html](http://iss.jaxa.jp/library/video/spacnavi_wn100519.html)
- 2) [http://www.nasa.gov/mission\\_pages/station/science/experiments/NeuroRad.html](http://www.nasa.gov/mission_pages/station/science/experiments/NeuroRad.html)
- 3) Majima HJ, et al.: "Intracellular oxidative stress caused by ionizing radiation" *In Oxidative Stress, Disease and Cancer*, ed. Singh K., Imperial College Press, London, UK, pp 61-83, (2006)
- 4) Indo, HP, et al.: "Evidence of ROS Generation by Mitochondria in Cells with Impaired Electron Transport Chain and Mitochondrial DNA Damage" *Mitochondrion* 7, 1-2: 106-118 (2007)
- 5) Majima, HJ, et al.: "Bio-assessment of Risk in Long-term Manned Space Exploration - Cell Death Factors in Space Radiation and/or Microgravity: -A Review-" *Biol. Sci. Space* 23, 2: 43-53 (2009)
- 6) <http://kibo.jaxa.jp/experiment/theme/first/neurorad/>