

きぼう棟利用実験の成果と今後の展望：宇宙放射線の生物影響

理化学研究所(RIKEN): 谷田貝文夫, 戒崎俊一

国立医薬品食品衛生研究所: 本間正充

宇宙航空研究開発機構(JAXA): 石岡憲昭

Results of the experiment using 'Kibo' module and its future development: Biological influences of space radiation

Fumio Yatagai and Toshikazu Ebisuzaki

RIKEN Institute, Wako-shi, Saitama 351-0198

Masamitsu Honma

National Institute of Health Sciences, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501

Noriaki Ishioka

Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA), Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8505

Abstract: An experiment was successfully conducted at 'Kibo' module of International Space Station (ISS) from November 14, 2008 to March 28, 2009. In order to estimate the space-radiation effects, which were not influenced by other space environmental factors such as microgravity, frozen cells of human lymphoblastoid TK6 were brought to 'Kibo' module and preserved there for 134 days (total dose of 72 mSv). After recovery to Earth, we observed a ~2.3-fold induction in thymidine kinase (TK) deficient mutation over the ground control. The indirect effects of space radiation were also detected by using the same frozen cell sample following the post-flight treatments such as 2 Gy X-ray irradiation or I-SceI digestion. The TK mutation frequency after the X-ray irradiation was found to be ~50% of the level of the X-ray irradiated ground control. The repair-efficiency for DNA double-strand break (I-sceI digestion) was ~2-fold higher than the ground control case. These results suggest the possibility that frozen cells can record DNA damage accumulated during space flight and subsequently express the genetic and cellular responses when grown on earth. A part of the frozen cells were incubated under μG or 1 G in 'Kibo' for 8 days. The post-flight assays demonstrated that cell-viability and mutability after the μG incubation were reduced to 55% and 59% of the level of 1G incubation, respectively. These results might suggest the possibility of microgravity influence in DNA repair, but future experiments are required for confirmation. An idea for the future experiment is also described here.

Key words: space radiation, microgravity, human cells, mutation induction, radioadaptive response

宇宙環境を最もよく象徴する因子として微小重力が挙げられるが、宇宙放射線被ばくによる影響も見逃してはならない。宇宙放射線による染色体 DNA 損傷のもたらす効果については、被ばくが低線量かつ低線量率であることから直接効果だけでなく、間接効果についても調べる必要がある。また、これらの DNA 損傷の修復や突然変異誘発が微小重力環境によって受ける影響についても解明しなければならない。

昨年度報告したように、今回の実験では、凍結状態のヒトリンパ芽球 TK6 細胞をスペースシャトルで打ち上げ、ISSのきぼう棟内のフリーザー-MELFIに保管した¹⁾。きぼう棟内で培養しなかった細胞サンプルは、134日間の宇宙フライトの全ての期間、 -80°C 以下で凍結状態であった。細胞の総被ばく線量は、細胞試料と同じ位置にセットした、PADLES (CR39/TLD-MS0)で測定したところ、1日あたりの平均で 0.54 mSv、合計で 72mSvに達した²⁾。地上での

自然放射線による年間での被ばく線量の平均値、2.4 mSvと比べると、ISS内は100倍近く高い放射線バックグラウンドということになる。

宇宙放射線被ばくの直接効果については、地上回収後に凍結細胞を解凍して培養し、私たちの開発した突然変異誘発の鋭敏検出法、Loss of Heterozygosity (LOH: 染色体接合性喪失)解析法で調べた³⁾。間接効果については、地上回収後に凍結細胞を解凍して培養してからストレス処理を施し、ストレスに対する適応応答の誘導の可能性を調べた。具体的には、突然変異誘発の抑制、DNA 2重鎖切断の修復効率の上昇、関連遺伝子の発現変化などを指標とした。

一部の凍結細胞は、きぼう棟内の CBEF で解凍し μG あるいは 1G 環境下で 8日間培養してから、再凍結して地球に持ち帰り、宇宙放射線被ばく (54mSv) した細胞のきぼう棟での培養直後の増殖能と変異誘発能を地上実験で推測した。以下に実験

結果をまとめる（図1）。

宇宙放射線による直接効果⁴⁾:①フライト群のTK変異誘発頻度は、地上コントロール群に比べて約2.3倍上昇した。②得られたTK変異細胞のLOH解析の結果、フライト群では地上コントロール群に比べて、TK遺伝子座領域を超えて染色体上の他領域に広がる、大きな欠失型変異が高頻度に誘発された。③統計的有意差は認められなかったが、宇宙放射線による変異誘発の可能性が高く、フライト中の宇宙放射線被ばくが細胞に蓄積（線量が積算）されたものと考えられる。

宇宙放射線による間接効果（適応応答）⁴⁾:①フライト細胞のX線2Gy照射によるTK変異誘発率は、地上コントロールの場合の約48%レベルに低下した。②得られたTK変異細胞のLOH解析を行った結果、欠失型LOHの誘発頻度が地上コントロールの約33%のレベルに低下し、①のTK変異誘発率の低下の主な原因であることが明らかになった。③フライト細胞でのI-SceI切断（DSB）のNHEJ及びHR経路による修復の効率は、地上コントロール細胞の場合に比べて、それぞれ1.8倍、1.7倍に上昇し、細胞内ではDSBの修復が活性化されたものと推測される。④遺伝子発現の解析結果、地上実験でのX線照射（50 mGy - 6h 培養 - 2 Gy）による適応応答誘導の場合と同様に、除去修復関連遺伝子などがX線2Gy照射によって発現上昇を示した。⑤上記結果から、この程度の低線量の宇宙放射線被ばくでは、細胞が適応応答誘導能を獲得する可能性が示唆された。

微小重力環境下での培養の影響:①μG下で培養し

た細胞群に残っていた増殖可能な細胞は、1G下で培養した細胞群の場合の55%レベルに低下した。②μG下で培養した細胞群のTK変異誘発率は1G下で培養した細胞群の場合の59%レベルに低下した。③DNA損傷が1G下の細胞培養では一部が変異を起こすが、μG下の培養では細胞死に繋がる可能性が高くなるという仮説を立てると上記の実験結果がうまく説明できる。

微小重力環境下での培養による、細胞のDNA修復能や変異誘発能の低下などの可能性については確認実験が必要であるが、DNA損傷をもつ凍結細胞をきぼう棟内で1G及びμGの両実験条件下で培養して損傷の修復・変異誘発を調べる実験を行えば、単なる再確認にとどまらず、生命の根源であるDNA修復についての新たな知見が期待される（図2）。

参考文献

- 1) Yatagai, F. et al., LOH analyses for biological effects of space radiation: Human cell culture in “Kibo” of International Space Station. *Biol. Sci. Space*, 23, 11-16 (2009).
- 2) JDX-2009905 http://idb.exst.jaxa.jp/db_data/padles/S001.php?locale=ja
- 3) Umebayashi et al., Mutation induction after low-dose carbon-ion beam irradiation of frozen human cultured cells. *Biol. Sci. Space*, 19, 237-241 (2005).
- 4) Yatagai et al., Frozen human cells can record radiation damage accumulated during space flight: mutation induction and radioadaptation, *Radiat. Environ. Biophys.*, in press (2011)

細胞	線量 (mSv)	重力ステータス					細胞処理 (G2)	測定結果 (相対値)	
		G1	F1	I	F2	G2		細胞増殖	変異誘発
凍結維持	72	-	-	-	-	-	-	1.3	2.3
		X-ray	-	-	-	-	-	-	0.48
		I-SceI	-	-	-	-	-	-	1.8/1.7**
	0.8 (地上)	-	-	-	-	-	-	1.0	1.0
		X-ray	-	-	-	-	-	-	1.0
培養	54 (F1) + 18 (I/F2)	-	1	0	0	1	-	0.30*	1.0
		-	1	0	1	0	1	-	0.55*
	0.8 地上	1	1	1	1	1	-	1.0	1.0

図1 細胞サンプルのGステータスと結果のまとめ (I-SceIの欄はDSBのNHEJ/HR経路による修復効率: 本文参照)

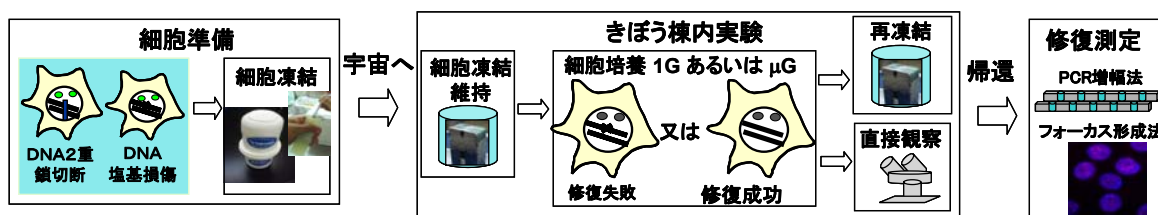


図2 将来計画についての提案: DNA損傷をもつ凍結細胞を打ち上げてその修復に対するμG効果を調べる実験