

## 凍結細胞への低線量放射線影響を適応応答効果として検出する試み

理研 谷田貝文夫\* ; 国衛研 本間正充 ; \*宇宙研 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

### An Effort for Detecting Influences of Low-dose Ionizing Radiation as Adaptive Response

*Fumio Yatagai\**

RIKEN Institute, Wako-shi, Saitama 351-0198

E-Mail: yatagai@riken.jp

*Masamitsu Honma*

Natl. Inst. Health Sci., Setagaya-ku, Tokyo 158-8051

E-mail: honma@nihs.go.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: DNA double-strand break (DSB) was introduced by the I-Sce I expression vector, pCBASce. Repair of DSB introduced by the I-SceI expression vector at the tk+ allele in human lymphoblastoid TK6 cell line, TSCE5, was measured by induction of TK-deficient mutants. Similarly we also measured the revertants due to such repair in its compound heterozygote (tk-/-) cell line, TSCER2, which carried an additional point-mutation in exon 5. The former and later measurements reflect the DSB repair efficiency due to DNA non-homologous end-joining (NHEJ) and homologous recombination (HR), respectively. The pre-treatment, C-ion-irradiation of frozen cells, TSCE5 and TSCER2 with 50 mGy enhanced DSB repair due to both pathways of NHEJ and HR, 2~3-fold. This kind of adaptive response might be observed with the cells recovered from the long preservation under the frozen status in ISS.

低線量宇宙放射線による被ばくの影響をいかに推測するかは極めて重要な問題である。この問題は、単に宇宙飛行士への健康影響といった観点からだけでなく、もう少し将来を見据えた宇宙環境利用といった大きな視野からも、究明すべき課題である。

ここでは、ヒトリンパ芽球細胞 TK6 の染色体 17 番上の特定部位 (制限酵素 I-SceI 認識部位) に導入した DNA2 重鎖切断 (DSB) の修復に及ぼす、低線量電離放射線 (Low-IR) 照射の影響を調べることを目的としている。Low-IR 照射を適応応答の予備処理とみなし、DSB 導入を本格 IR 照射とみなす考え方である。すなわち、低線量放射線影響を適応応答として検出する試みである。

始めに、DSBの主な2つの修復経路、非相同末端結合 (Non Homologous End-joining : NHEJ) と相同組換え (Homologous Recombination:HR) を調べるため、I-SceI認識部位を導入したTSCE5細胞とその株に点突然変異を導入したTSCER2の2種類の細胞を樹立した<sup>1)</sup>。次に、凍結細胞に5cGyの炭素イオン照射を行い、解凍して培養 (0, 6, or 15 hr) した後に、細胞にI-SceI発現ベクターpCBASceをエ

レクトロポレーション (AMAXA) で感染させて、TK遺伝子座内にDSBを導入する。感染後に細胞を3日間培養した後、TSCE5細胞には薬剤 (TFT) 処理して、チミジンキナーゼ (TK) 欠損変異の誘発を、TSCER2細胞にはHAT処理をしてTK復帰変異の誘発を測定した。それぞれの変異の誘発率が、NHEJ、HRによるDSBの修復効率を反映している (図1, 2)。

これらの測定結果から、HR、NHEJ いずれの系によるDSB修復も、低線量 (50mGy) の炭素イオン照射によって、非照射の場合に比べ、その効率が2~3倍程度増加 (適応応答) を示す傾向が認められた。

TK6細胞のLOH (Loss of Heterozygosity : ヘテロ接合性の喪失) 検出系は、通常の培養液中の浮遊状態だけでなく、凍結した細胞に炭素イオン 100mGy照射をした場合でも、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系である<sup>2-4)</sup>。このLOH検出系とほぼ同様な変異誘発の測定を行うことによって、ISSに長期間、凍結保存した細胞でも適応応答として、低線量放射線の影響を適応応答として検出可能であることが示唆される。X線やγ線などを利用した、適応応答関連の実験結果<sup>5-6)</sup>も考

慮に入れ、今後の宇宙研究の展開を考えたい。

参考文献

- 1) Honma, M., Izumi, M., Sakuraba, M., Tadokoro, S., Sakamoto, H., Wang, W., Yatagai, F. and Hayashi, M.: Deletion, rearrangement, and gene conversion; genetic consequences of chromosomal double-strand breaks in human cells. *Environ. Mol. Mutagen.* **42**: 288-298 (2003).
- 2) 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 (2002).
- 3) Morimoto, S., Honma, M., and Yatagai, F.: Sensitive detection of LOH events in a human cell line after C-ion beam exposure, *J. Radiat. Res.*, **43 Suppl.**, 163 (2002).
- 4) Umebayashi, 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  $\gamma$ -ray irradiation: Detection by LOH analysis. *J. Radiat. Res.*, **48**, 7-11 (2007).
- 5) Yatagai, F., Umebayashi, Y., Suzuki, M., Abe, T., Suzuki, H., Shimazu, T., Ishioka, N., Iwaki, M., and Honma, H.: Influence of low-dose and Low-dose-rate ionizing radiation on mutation induction in human cells. *Adv. Space Res.*, **40**, 470-473 (2007).
- 6) Yatagai, F., Umebayashi, Y., Honma, M., Sugasawa, K., Takayama, Y., and Hanaoka, F.: Mutagenic radioadaptation in a human lymphoblastoid cell line. *Mutat. Res.*, **638**, 48-55 (2007).

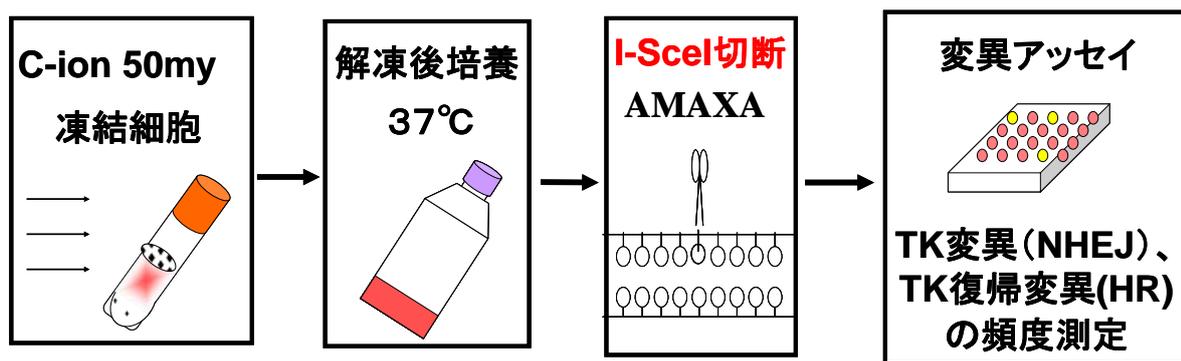


図1 実験手法の概略(本文参照)

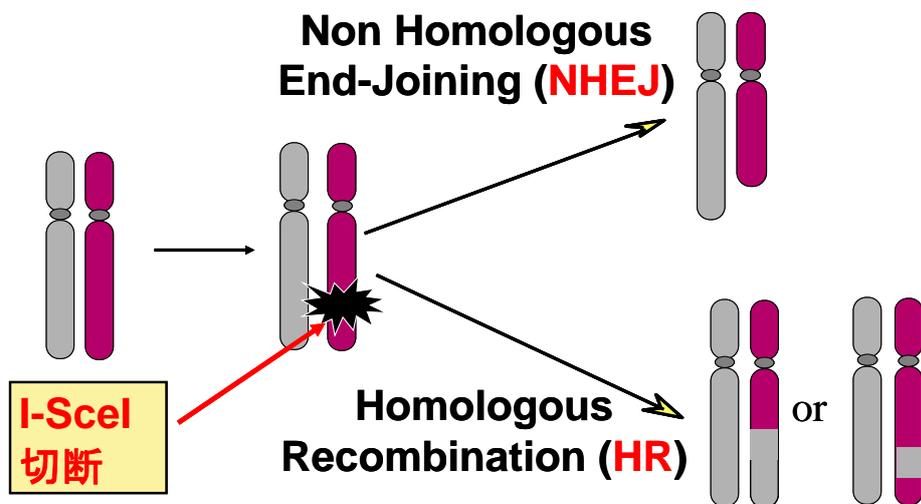


図2 DSB 修復における、主要2経路、Non Homologous End-joining (EJ)と Homologous Recombination(HR) NHEJ は TK(-)変異の誘発率、HR は TK(+)復帰の誘発率から、各経路による DSB 修復効率を測定 (本文参照)