

宇宙環境放射線影響を検出するために適応応答は利用できるか？

理研 谷田貝文夫、梅林志浩、菅沢薫、花岡文雄、岩木正哉； 国衛研 本間正充

宇宙研 石岡憲昭； 日本宇宙フォーラム 嶋津徹、鈴木ひろみ

An Application of Adaptive Response for Detection of Space Environmental Radiation Effects

Fumio Yatagai, Yukihiro Umabayashi, Kaoru Sugasawa, Fumio Hanaoka and Masaya Iwaki

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

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

E-mail: ishioka.noriaki@jaxa.jp

Toru Shimazu and Hiromi Suzuki

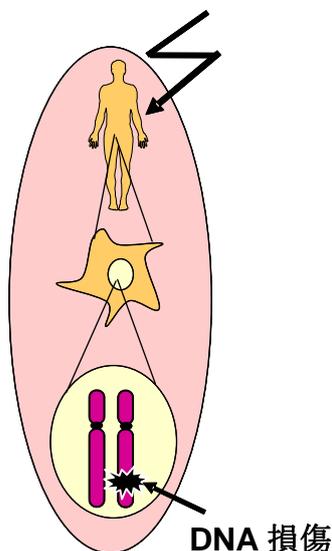
Japan Space Forum, Chiyoda-ku, Tokyo104-0004

E-Mail: shimazu@jsforum.jp

Abstract: It is important for radiation risk estimation to study the “adaptive response” triggered by low-dose ionizing radiation. In this study, we tried to detect the genetic influences of low-dose (2.5 ~ 10 cGy) X-ray pre-irradiation through the window of adaptive response. The genetic changes on the chromosome after the challenging dose of X-ray (2 Gy) were analyzed by the LOH (Loss of heterozygosity) detection system, which we have already established with human lymphoblastoid cell TK6. The observed adaptive-response can be explained by the suppression of non-LOH mutations, most of which are considered to be point mutations. These results strongly suggest that the genetic influences of space environmental radiation can be estimated from the data of space experiments assuming such radiation exposure as the trigger of adaptive response.

Key words; Space Utilization Experiment, Adaptive Response, International Space Station

低線量宇宙放射線



1. 直接観察できないか？

1) 鋭敏な検出法の開発：

ヒト培養細胞を利用して染色体レベルでの変異誘発(LOH)を調べる。

2) 実際のISS実験への対応：

細胞を凍結した状態でも検出できる。

2. 間接的でもよいから検出できないか？

1) 適応応答の利用：

宇宙滞在を予備照射と考えて、細胞を地上回収後に本格的な放射線を照射する。

2) 回収後の本格放射線照射の代わりに

制限酵素で染色体を1箇所特異的に切断

ヒトリリンパ芽球細胞 TK6 を用いた適応応答の実験を行ったところ、前もって低線量 (5~10 cGy) の X 線を照射しておく、2 Gy の X 線照射による変異誘発が半分近くまでに抑制され、抑制がかかったのは染色体上の大きな変異ではなく点突然変異型であった。このような興味深い結果の報告をするとともに、国際宇宙ステーションを利用する実験研究にもこの種の適応応答実験を取り入れることが可能かどうかについてここで議論したい。

前頁のイラストにあるように、私たちは低線量の宇宙放射線の影響をヒト培養細胞に起こる染色体異常の誘発を指標にして検出することを提案し、地上の予備実験でその可能性があることを実証してきた。これらの詳しい報告については別の機会に譲るがここで簡単に紹介すると次のようになる。

低線量放射線の遺伝的影響を検討する系として、ヒトリリンパ芽球細胞 TK6 細胞を利用した、チミジンキナーゼ (TK) 遺伝子のヘテロ接合性の喪失 (LOH) を指標とする高感度検出システム (図 1) の有効性を主張してきた¹⁾。重イオンなどを含む宇宙放射線によって生じた DNA 2 本鎖切断 (DSB) が原因となって引き起こす可能性のある LOH 誘発を鋭敏に検出できることを、加速炭素イオン線などによる地上の照射実験ですでに証明した^{2,3)}。さらに、炭素イオンによる照射実験では、国際宇宙ステーションでの実験を想定して、凍結した細胞を低線量照射した。この場合も浮遊状態の通常照射の場合と同様に高感度で、放射線によると考えられる LOH の誘発を検出することに成功した⁴⁾。

昨年度の本シンポジウムにおいても発表したように、実際に、この TK6 細胞 LOH 検出系を利用して、低線量放射線の影響を適応応答効果として染色体レベルで検出できるか否か、すなわち、適応応答の有無、さらに、有る場合はその最適条件を明らかにするための研究を原子力基盤クロスオーバーの一環として行っている。また、この研究は、宇宙放射線の遺伝的影響を検討するための地上実験研究としても進めている。先ず始めに、予めの低線量 X 線照射が本格的な X 線照射による TK 変異誘発に及ぼす影響を調べている。予めの低線量は 10 cGy、本格的照射の線量は 2 Gy とし、予備照射と本格照射のインターバルは 1.5, 3, 6, 9, 12 hr と変えて TK 変異体の誘発率を測定した。変異誘発率の低下には 6 時間前の予備的低線量照射が有効と考えられた (図 2)。次に、照射の間隔を 6 時間前に設定して、5 cGy あるいは 10 cGy の予備照射をすると、予備照射をしないときの TK 変異誘発を半分程度まで抑制することが明らかにな

った (図 2)。

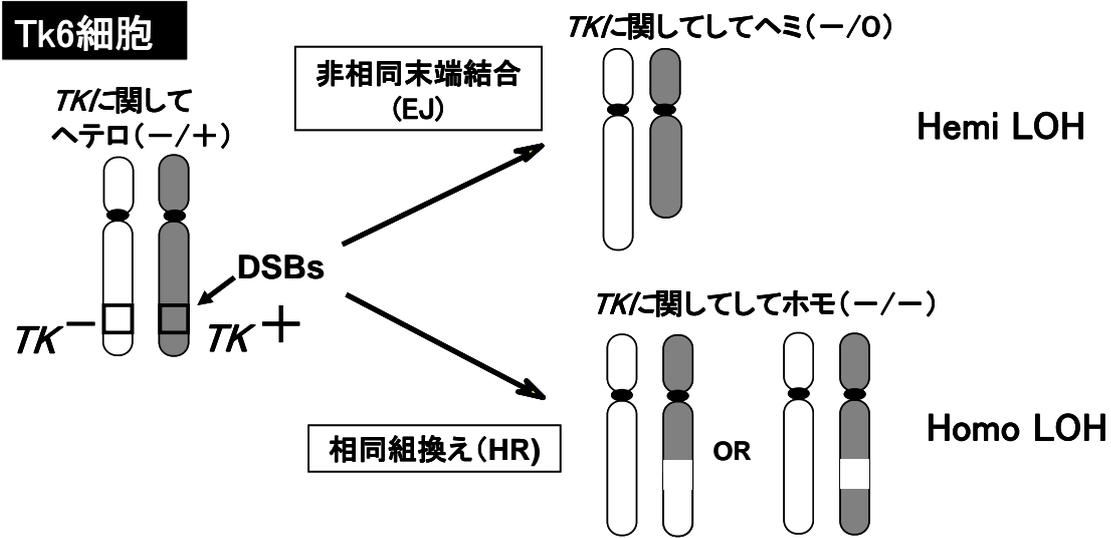
上述の適応応答検出の最適と考えられる条件で選択した、TK 変異細胞から染色体 DNA を抽出し、染色体 DNA の特定領域の蛍光標識プライマーによる PCR を行い、その産物を DNA シーケンサーによって解析した。TK 遺伝子座内のエクソン 4 とエクソン 7 領域の PCR 増幅の結果から突然変異が LOH 型を示すか否か、またその LOH がホモ型かヘミ型かを判定した。この解析結果はここには示していないが、上述の予備照射による変異誘発の抑制が非 LOH 型 (恐らく点突然変異と考えて間違いないが現在確認中) の誘発抑制で説明がつくという結果を示した。当初は LOH 型のタイプやその染色体上での拡がり分布などに影響がでるものと予想していたが、全く覆す結果となった (データ省略)。極めて低頻度ではあるが、DNA 相同組換えを介して発生したと考えられる、染色体の局所的な組み換え変異体 (ホモ型 LOH) には注目して、今後の研究を進めたい。

これらの実験結果から、細胞の宇宙空間 (ISS 長期滞在) における放射線被ばくを適応応答のトリガー (予備照射) と考えて、地上に細胞を回収してから本格的刺激 (電離放射線照射や細胞内の染色体部位特異的切断の導入などの処理) による変異誘発の特異性を調べる実験も、遺伝的影響を調べる上で有効であることが強く示唆された。

参考文献

- 1) Yatagai, F., Morimoto, S., Kato, T. and Honma, M.: Further characterization of loss of heterozygosity enhanced by p53 abrogation in human lymphoblastoid TK6 cells: disappearance of endpoint hotspots. *Mutation Research*, **560**, 133 (2004).
- 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., Abe, T., Ryuto, H., Suzuki, H., Shimazu, T., Ishioka, N., Iwaki, M., and Yatagai, F.: Mutation induction after low-dose carbon ion beam irradiation, *submitted to Biol. Sc. Space* (2006).

LOHとはヘテロ接合成の喪失(Loss of Heterozygosity)



LOHの原因とならない突然変異は検出できないのか

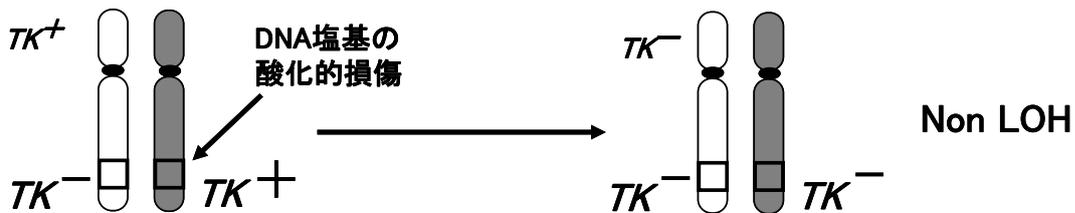


図1 LOH (ヘテロ接合性の喪失) の概念

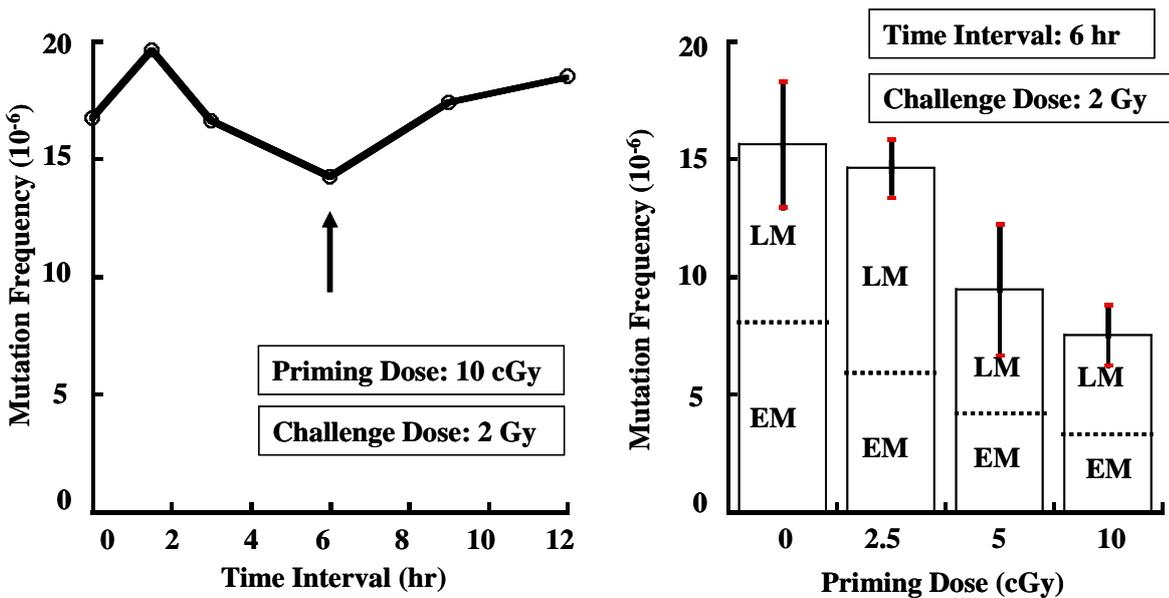


図2 適応応答検出のための最適条件の検討