

二次元培養ラット乳腺細胞への X 線マイクロビーム照射 及びその動態追跡

Cell dynamics of two-dimensional cultured rat mammary cells irradiated with an X-ray microbeam

西村由希子^{1,2}, 神長輝一², 宇佐美德子³, 横谷明德², 今岡達彦²

¹公益財団法人環境科学技術研究所〒033-033 青森県上北郡六ヶ所村大字尾駮字家ノ前 1-7

²量子科学技術研究開発機構〒263-8555 千葉県稲毛区穴川 4-9-1

³高エネルギー加速器研究機構〒305-0801 つくば市大穂 1-1

Yukiko NISHIMURA^{1,2}, Kiichi KAMINAGA², Noriko USAMI³

Akinari YOKOYA² and Tatsuhiko IMAOKA²

¹Institute for Environmental Sciences

1-7 Ienomae Obuchi, Rokkasho-mura, Kamikita-gun, Aomori-ken 039-3212 Japan

²National Institute of Quantum and Radiological Science and Technology

4-9-1 Anagawa Inage-ku Chiba 263-8555 Japan

³Photon Factory, IMSS, KEK 1-1 Oho Tsukuba 305-0801 Japan

1 はじめに

東京電力福島第一原子力発電所事故以降、低線量被ばくの生体影響の解明が社会から求められている。しかし低線量率被ばくの発がんリスクについては疫学データの精度が高くなく、放射線健康影響に関する重要な課題である。

低線量放射線が細胞に与える影響としてバイスタンダー効果（照射された細胞だけでなく、周囲の細胞にも同様な影響が現れる現象）[1]や、細胞競合（異常な細胞、また適応性の低い細胞が正常な細胞集団から排除される現象）[2]が今注目を集めている。被ばくの線量がある程度以上高い場合、照射野のほとんど全ての細胞が放射線の影響を受けるが、低線量域では影響を受ける細胞は全体のごく一部である。

以上の理由により、ターゲットとなる細胞のみに照射することができるマイクロビームは、低線量率に近い効果であると考えられ、前記した現象を研究する為の有用なツールとなる可能性がある。ラットに低線量率のγ線を照射すると、高線量率と比べて発がんの頻度が低下することが知られている[3]。そこで我々は2017年から三次元培養したラット乳腺細胞コロニーを用いた X 線マイクロビーム照射実験を進めており、細胞集団中のターゲット細胞にのみ照射し、その後長期間（タイムラプス）撮影により、細胞を追跡することに成功した。しかし三次元では、顕微鏡で視野確認した位置と、実際にビームが当たる位置に焦点のズレが起こることや、コロニー中のターゲット細胞が表層または深層のどちらに存在するのか判別が難しいなど、一細胞単位で正確に照射することが困難であることも分かった。そこで2019年からは二次元培養を用いて同実験を行なっているため進捗について報告したい。

2 実験

2種類のトランスジェニックラットから単離した、蛍光タンパクである GFP 及び DsRed を発現するそれぞれの乳腺細胞を 1:1000 の割合で混合し、多数の DsRed 発現細胞の中に少数の GFP 細胞が混ざった状態で二次元培養を行った（図1）。

BL-27B 生物ステーションの X 線マイクロビーム照射装置にディッシュを設置し、倍率 100X で観察しながら、ターゲットである GFP 細胞に 0、1 または 10Gy を照射した。

それぞれ CO2 インキュベーターを付属した共焦点蛍光顕微鏡システムを用いて、照射直後から、3 時間の間隔で最大 96 時間（照射後 4 日間）まで自動タイムラプス撮影、または照射後 24 時間ごとに手動で撮影を行った。直径 8mm のウェル全体を連結撮影・画像化し、ウェル内のターゲット細胞を追跡して観察した。

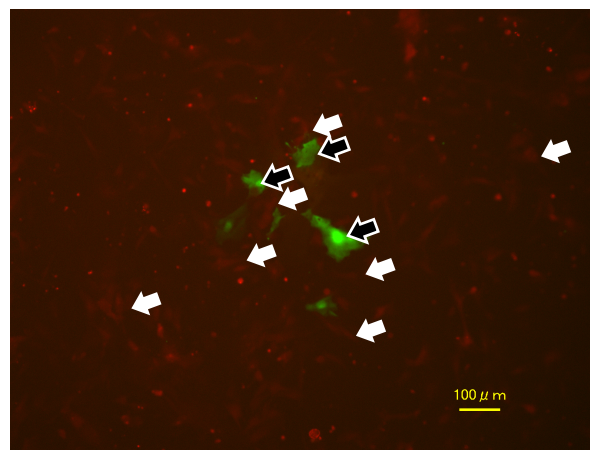


図 1 : DsRed 細胞集団（白矢印）の中にある少数の GFP 細胞（黒矢印）。

3 結果および考察

照射したターゲット細胞 (GFP) を追跡してタイムラプス撮影した結果、0 または 1Gy では 72 時間経過してから死滅していくのに対し、10Gy 照射では 24~48 時間で死滅することが分かった (図 2)。

4 まとめ

二次元培養したラット乳腺細胞への X 線マイクロビーム照射実験において、ターゲットとなった細胞を長時間撮影 (タイムラプス) により追跡・観察することができた。1Gy 照射及び非照射 (コントロール) でも 72 時間で GFP 細胞は僅かに排除されるが、排除されず生存を続ける細胞も観察された。一方、10Gy を照射するとこの排除が早まり、24~48 時間で照射細胞が完全に排除されることが分かった。今後は同実験を反復しさらに詳しい解析を行う予定である。さらに低線量で生き残った細胞や、隣接する非照射の細胞を含め、その細胞状態をライブセルで詳細に観察することで、放射線照射により影響を受けた細胞の排除における競合現象の役割を解明したい。

謝辞

本研究は基盤研究(C) (JP19K12334) の助成を受けた。

参考文献

- [1] S.G. Sawant *et al.*, *Radiat. Res.* **155**, 397-401 (2001).
- [2] O. Niwa *et al.*, *Ann. ICRP.* **44**, 7-357 (2015).
- [3] T. Imaoka *et al.* *Radiat. Res.* **191**, 245-254 (2019).

* imaoka.tatsuhiko@qst.go.jp

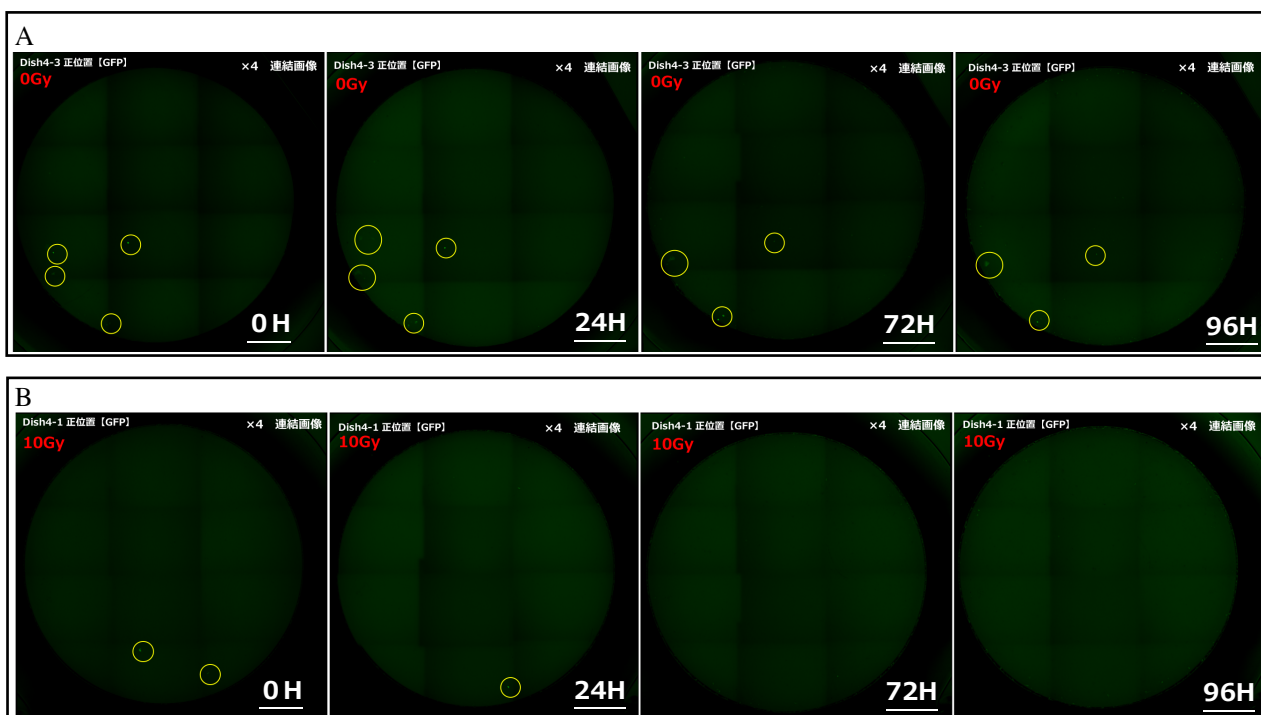


図 2：照射直後から 24 時間ごとに 96 時間まで手動撮影したウェルのタイリング画像 A (0Gy) は丸で囲まれた細胞が 72 時間で消え始めるのに対し、B (10Gy) では 24 時間後から細胞が消え始める。