

X線マイクロビームを用いた不均一照射による細胞集団の応答
-内部被ばく健康影響を考えるための生物基礎実験-

The response of DNA damage in normal human cell populations locally irradiated
with X-ray microbeams of different beam sizes: Basic study to clarify the health
effects of internal exposure

小嶋光明¹, 伊藤敦², 宇佐美德子³, 大原麻希³, 鈴木啓司⁴, 甲斐倫明¹

¹大分県立看護科学大学 人間科学講座 環境保健学研究室,
〒870-1201 大分県大分市廻栖野 2944-9

²東海大学 工学部 原子力工学科, 〒259-1292 神奈川県平塚市北金目 4-1-1

³大学共同利用機関法人高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所,
〒305-0801 茨城県つくば市大穂 1-1

⁴長崎大学 原爆後障害医療研究所, 〒852-8523 長崎市坂本 1 丁目 12-4
Mitsuaki OJIMA^{*}, Atsushi ITO², Noriko USAMI³, Maki OHARA³, Keiji SUZUKI⁴
and Michiaki KAI¹

¹ Oita University of Nursing and Health Sciences, Oita 840-1201, Japan

² School of Engineering, Tokai University., 4-1-1 Hiratsuka, Kanagawa, 259-1292, Japan

³ Photon Factory, Institute of Materials Structure Science, High Energy Research Organization,
1-1 Oho, Tsukuba, Ibaraki, 305-0801, Japan

⁴Department of Radiation Medical Sciences, Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University,
1-12-4 Sakamoto, Nagasaki, 852-8523, Japan

1 はじめに

2011年3月11日の東日本大震災で起きた福島第一原発事故により、大気中に放射性セシウム (Cs-137) が放出された。Cs-137は半減期が30年と長く、土壌や粉じん等に吸着した状態で環境中に存在する。Cs-137が食べ物や呼吸を通して体内にとりこまれると、肺に不均一に沈着し、内部被ばく (不均一な被ばく) を引き起こす[1]。現在、内部被ばく健康影響は同じ臓器・組織平均線量であるならば、外部被ばく (均一な被ばく) と違いはないと仮定されている [2]。しかし、同一臓器内での均一な被ばくと不均一な被ばくは、個々の細胞が受ける線量が異なる。特に、不均一な被ばくの場合は、線源が付着した周囲の細胞では線量が高く、線源から離れた位置にある細胞では線量が低くなっていくため[3]、細胞集団全体としての応答は、均一に被ばくした場合と異なってくると予想される。

そこで、本研究では組織・臓器内の不均一な被ばくの生物影響を明らかにするための一環として、X線マイクロビーム照射装置を用いて、ヒト正常線維芽細胞集団に照射面積を変えてX線を照射し、照射野面積の大小により細胞集団の応答に違いが生じるか否かを明らかにすることを目的とした。

2 実験方法

ヒト正常線維芽細胞であるMRC-5を133mm²のグリッド付きカバーガラス (GC1300, Matsunami Glass Industry Co., Ltd.) 上でコンフレントになるまで培養し、約 5×10^4 個からなる細胞集団を作成した。その後、高エネルギー加速器研究機構にあるX線マイクロビーム照射装置 (BL-27B; 5.35keV, 0.2Gy/s) を用いて、細胞集団内の0.02 mm²、0.09 mm²、0.81 mm²、1.89 mm²の面積に1GyのX線をそれぞれ照射した。照射後、1~48時間培養した後に細胞を固定し、照射野にある細胞 (照射細胞) 1個あたりのDNA二重鎖切断 (DSB) 数を、DSB部位に集積するタンパク質の一つである53BP1を指標として解析した。

3 結果および考察

まず、1GyのX線を照射して1時間後におけるDSB数を調べた。その結果、照射細胞に観察されたDSB数が照射野面積に依存して増加していることが分かった (図1の●)。

1993年にHopewellらは、β線をブタの皮膚に照射面積を変えて照射し、皮膚障害 (湿性落屑) の発生率を調べた。その結果、照射野面積が大きいほど皮膚障害の発生率が高くなることを報告した[4]。こ

の現象は面積効果（RIFSE; Radiation-Induced Field Size Effect）と呼ばれている[4-6]。よって、本研究でも RIFSE の存在が確認された。

次に、照射 48 時間後までにおける DSB 数の経時的変化を調べた。その結果、0.09 mm² 以下では照射してから 24 時間後までに DSB 数がバックグランドレベルまで減少していたが、0.81 mm² 以上では 48 時間が経過した後であっても DSB 数が残存していることがわかった（図 1 の ◆）。

近年、放射線照射を受けた細胞と非照射の細胞の間で様々なコミュニケーションが行われていることが明らかにされてきた。2011 年に Chen らは、X 線を照射した HeLa 細胞（ヒト子宮頸癌細胞）を非照射の NHLF 細胞（ヒト初代線維芽細胞）と同じ培養液中で共存培養させると、HeLa 細胞の生存率が改善されることを報告した[7]。この現象は放射線誘発レスキュー効果（RIRE; Radiation-Induced Rescue Effect）と呼ばれている [7-11]。この報告から、我々は照射野と非照射野の境界にある細胞では RIRE が生じているのではないかと考えた。

そこで、本研究結果から RIFSE のメカニズムとして次のような仮説を立てた。照射野の面積が小さくなればなるほど、ほとんどの照射細胞は非照射細胞と接触した状態になる。これにより RIRE が生じ、照射細胞の DSB は速やかに修復される。しかし、照射野の面積が大きくなると、非照射細胞と接触していない照射細胞が多くなるため、RIRE が生じ難くなり、照射細胞の DSB 数が増加する。よって、RIRE が RIFSE を誘導すると考えた。

以上の本研究結果より、RIFSE が正常なヒト細胞集団でも観察されることがわかった。この結果は不均一に沈着した Cs-137 による内部被ばく健康リスクを明らかにする上で、重要な生物学的証拠を与えると考えている。また、RIRE が照射後の細胞集団の応答に関与している可能性があるかと推測された。この点は、ビーム放射線療法などの生物学的効果に関連する線量概念を検討する上で重要な問題である。

本研究は生物影響と結びついた線量概念を考える上でも重要な課題でもあり、今後のさらなる研究が必要である。

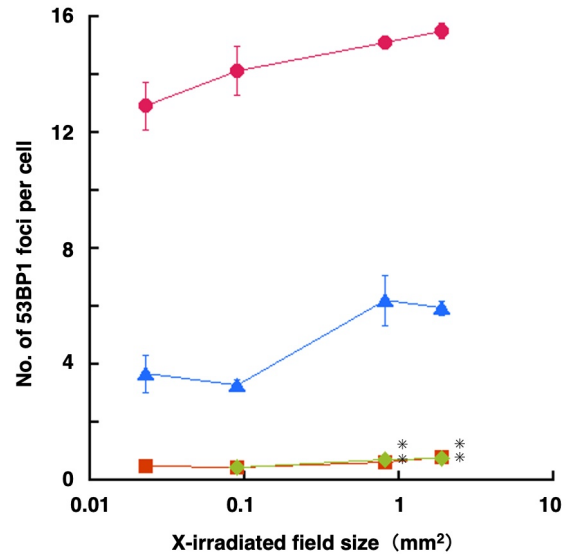


図 1 : DNA 損傷と照射面積の関係
照射 1 時間後 (●)、4 時間後 (▲)、24 時間後 (■)、48 時間後 (◆) の X 線照射野内の 53BP1 フォーカス数 (平均±標準誤差) を示す。
*はバックグランドレベルと比較して有意差が求められた箇所を示す (p<0.05, t 検定)

4 まとめ

本研究では、X 線マイクロビーム照射装置を用いて、正常なヒト細胞集団に照射野面積を変えて 1 Gy の X 線を照射し、照射細胞を対象に DSB 数を解析した。その結果、照射野面積が小さいほど、DSB 数が減少することがわかった。この結果は、照射細胞が周囲の非照射細胞からレスキュー信号を受け取り、DSB が速やかに修復された可能性を示している。本研究結果は内部被ばく健康リスクを明らかにする上で、重要な生物学的根拠を与えると考えている。

参考文献

- [1] T. Ishikawa, M. Matsumoto, T. Sato, I. Yamaguchi and M. Kai, *J Radiol Prot.* **38**, 1253–1268 (2018).
- [2] J.D. Harrison and C.R. Muirhead, *Int J Radiat Biol.* **79**, 1-13 (2003).
- [3] Y. Matsuya, *Sci Rep.* **9**, 10365 (2019).
- [4] D.M. Peel, J.W. Hopewell, J. Wells and M.W. Charles, *Radiat Res.* **99**, 372-382 (1984).
- [5] J.E. Coggle, L.S. Hansen, J. Wells and M.W. Charles, *Radiat Res.* **99**, 336-345 (1984).
- [6] J.W. Hopewell, V.K. Sieber, J.C. Heryet, J. Wells and M.W. Charles, *Radiat Res.* **133**, 303-311 (1993).
- [7] S. Chen, Y. Zhao, W. Han, S.K. Chiu, L. Zhu, L. Wu and K.N. Yu, *Mutat Res.* **706**, 59-64 (2011).
- [8] R.K. Lam, Y.K. Fung, W. Han and K.N. Yu, *Int J Mol Sci.* **16**, 2591-2609 (2015).
- [9] R.K. Lam, W. Han and K.N. Yu, *Mutat Res.* **782**, 23-33 (2015).

- [10] G. Adrian, D. Ceberg, A. Carneiro and L. Ekblad,
Radiat Res. **189**, 44-52 (2018).
- [11] K.N. Yu, *J Radiat Res.* **160**, 163-170 (2019).

成果

Ojima M, Ito A, Usami N, Ohara M, Suzuki K, Kai M,
Field size effects on DNA damage and proliferation in
normal human cell populations irradiated with X-ray
microbeams, *Sci Rep* **11**, 7001 (2021).

* ojima@oita-nhs.ac.jp