

## まばらに当たった放射線はラット乳腺細胞の競合に影響するのか Does sparse radiation exposure affect rat mammary cell competition?

西村由希子<sup>1</sup>, 神長輝一<sup>1</sup>, 宇佐美德子<sup>2</sup>, 横谷明德<sup>1</sup>, 今岡達彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>量子科学技術研究開発機構〒263-8555 千葉市稲毛区穴川 4-9-1

<sup>2</sup>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<sup>1</sup>, Kiichi KAMINAGA<sup>1</sup>, Noriko USAMI<sup>2</sup>

Akinari YOKOYA<sup>1</sup> and Tatsuhiko IMAOKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Institutes for Quantum Science and Technology  
4-9-1 Anagawa Inage-ku, Chiba 263-8555, Japan

<sup>2</sup>Photon Factory, IMSS, KEK 1-1 Oho, Tsukuba 305-0801, Japan

### 1 はじめに

放射線が誘発する健康への影響は、社会的にもそのメカニズムの解明が求められる重要な課題である。東京電力福島第一原子力発電所の事故以降、低線量被ばくが体に及ぼす影響が調査されてきたが、低線量率被ばくの発がんリスクについての疫学データは少ない。放射線のエネルギー付与を受ける細胞が全体のごく一部である低線量域での生体影響のメカニズムは、照射野のほとんど全ての細胞が放射線の影響を受ける高線量域とは異なることが予測されている。近年は低線量影響として、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バイスタンダー効果[1]や、異常な細胞または適応性の低い細胞が正常な細胞集団から排除される細胞競合現象[2]が注目されている。

細胞集団中のターゲット細胞のみに照射することができるマイクロビームは、まばらに放射線が当たる低線量率照射に近い状態を再現できる照射法であるため、細胞競合現象を模擬することができる。

放射線感受性が高いことで知られている乳腺は、ラットを用いたγ線照射による発がん実験で、高線量率照射より低線量率で発がんの頻度が低下することが分かっている[3]。それらの理由から本研究は「まばらに当たった放射線はラット乳腺細胞の競合に影響するのか」という問いに答えることを目的とし、2017年からラット乳腺細胞の培養系でX線マイクロビーム照射実験を行ってきた。またこの実験では、照射後の効率的なタイムラプス撮影を行うため、一般的にマイクロビーム実験で使用されるマイラフィルム上での培養ではなく、ガラスボトムディッシュを用いて実験を行った。

前年度まではマイクロビーム実験を行う中で得たいくつかの技術的な知見を報告してきた。今回はこれまでに得たデータを解析し、本研究のまとめとして報告する。

### 2 実験

蛍光タンパクである GFP もしくは DsRed の一方を発現する遺伝子組換えラットから単離した乳腺細胞を 1:800~1:2000 の割合 (GFP:DsRed) で混合し、多数の DsRed 発現細胞と少数の GFP 発現細胞を混合して二次元培養を行った (図 1A)。マイクロビームを用いて細胞集団中の少数の GFP 発現細胞のみに 2Gy を照射する「Spot 照射」(図 1B)、また細胞集団中の少数細胞を含めた領域に 2Gy を照射する「Broad 照射」(図 1C) を行うことで、低線量および高線量放射線による細胞へのまばらな、または全体的なダメージを模擬した。

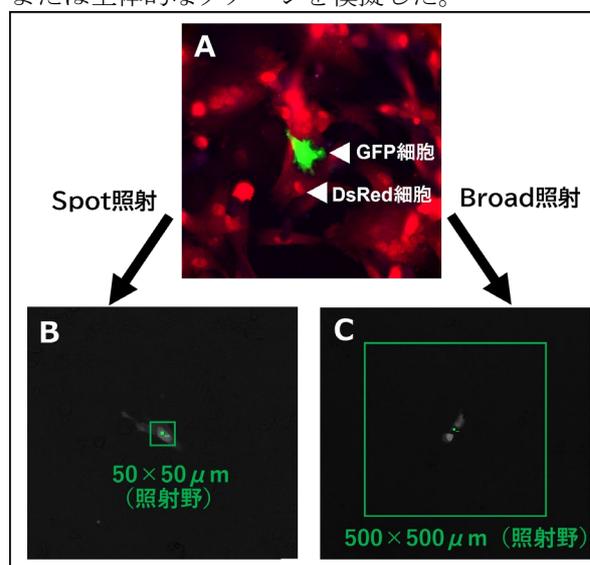


図 1 : Spot 照射と Broad 照射。二種類の細胞を混合して培養したディッシュ内では A のように GFP (ターゲット) 細胞が多くの DsRed 細胞と隣接した状態。実際のマイクロビーム照射画面では B, C のように GFP の蛍光シグナルのみグレーで観察できる。(緑色は照射野の中心と範囲を示す)

その後 3 時間ごとに最長 171 時間のタイムラプス撮影を行い、それぞれの条件で照射したターゲット細胞を追跡し、細胞の消失 (蛍光の消失によって判定) までの時間 (図 2) を測定した。

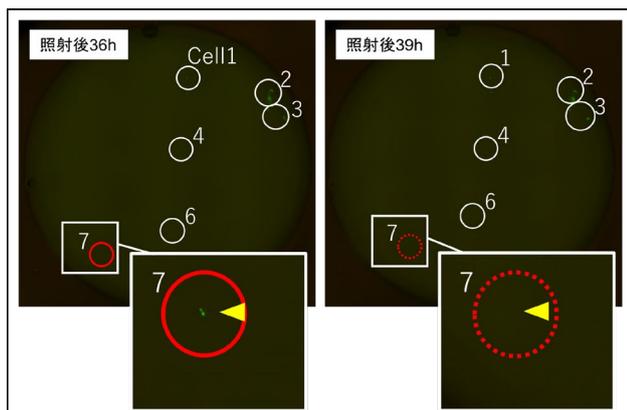


図 2 : 照射後のタイムラプス撮影画像。照射後 36 時間では Cell7 を確認できるが、37 時間では消失している。

### 3 結果および考察

図 3 にマイクロビーム照射を行ったターゲット細胞が消失するまでの時間を示す。Spot 照射した細胞と非照射の細胞が消失するまでの時間に有意な差は見られなかった。また Broad 照射群と非照射群の間にも有意な差は見られなかった。もし細胞競合が起こったとすると、Spot 照射されたターゲット細胞は周囲の非照射細胞との競合に敗れて早く排除されるが、Broad 照射でターゲット細胞を含めた周囲の細胞も照射された場合は競合が起こらないと想定していたが、その仮説はラット乳腺細胞培養系では立証されなかった。

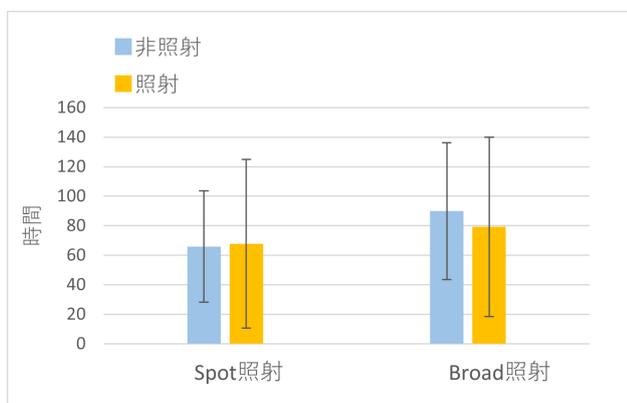


図 3 : マイクロビーム照射を行ったターゲット細胞が消失するまでの時間。平均値と標準偏差 (n=17~20)。

### 4 まとめと展望

ラット乳腺細胞の培養系を用いたマイクロビーム照射実験は、少なくとも本実験の条件では細胞競合は起こらないという結果となった。

細胞競合とは遺伝子変異を持った細胞がその境界で隣り合った正常細胞と適応度を競い合う現象である。これまでマウス腸管幹細胞で放射線による DNA ダメージにより細胞競合が起こるといった報告はある

が[4]、ラット乳腺細胞をはじめとするその他の細胞を用いた実験報告はない。ラット乳腺細胞は上皮細胞と筋上皮細胞の二種類に分化する特性があるなど、生体内に近い性質があり、興味深い研究対象である。

現在 p53-/-変異遺伝子ラットを用いた実験に着手しており、ラット乳腺培養系で細胞競合の起こる条件が見つかったら、再びマイクロビームを用いた実験を行うという計画である。

### 謝辞

本研究は科学研究費補助金基盤研究(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).
- [4] Y. Fujimichi *et al.* *Sci. Rep.* **9**, 20297 (2019).

\* [imaoka.tatsuhiko@gst.go.jp](mailto:imaoka.tatsuhiko@gst.go.jp)