

## X線マイクロビーム暴露細胞からのバイスタンダー効果によるグリオーマ細胞遊走の誘導

### Induction of migration on glioma cells by bystander effect of cells exposed to x-ray microbeams

前澤 博<sup>1\*</sup>, 宇佐美徳子<sup>2</sup>, 小林克己<sup>2</sup>

<sup>1</sup>徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部, 〒770-8509 徳島市蔵本町 3-15-21

<sup>2</sup>物質構造科学研究所, 〒305-0801 つくば市大穂 1-1

#### 1 はじめに

陽子やヘリウム核のマイクロビームを用いた細胞死, 突然変異あるいは形質転換誘発研究などにより, 粒子線による低線量, 低線量率および照射部位の依存性が研究された。Kobayashi らによって生物試料用の X 線マイクロビーム照射システムが開発され (KEK-PF BL27B) [1~3], これは放射線影響研究のために世界で利用できる唯一のものである。Maeda らは線量および照射野が可変である特徴を利用し, 1Gy 以下の領域で起こる hypersensitivity が細胞の全体照射では核照射よりも低下し, 細胞死に細胞質が関与する機構を示唆した[4]。Tomita らは正常ヒト繊維芽細胞でバイスタンダー効果による致死を見いだした[5]。

細胞の運動能力は損傷治癒やがんの転移などと関係する。遊走や浸潤の活性は放射線量や細胞種に依存することが報告されている。しかし, 小線量被ばく時のように集団内の少数細胞のみが細胞核あるいは細胞質の照射を受けた場合のバイスタンダー効果による非照射細胞の遊走や浸潤の活性変化については知られていない。

本稿では, マイクロビーム X 線で少数の細胞核が照射された時の非照射グリオーマ細胞の遊走について報告する。

#### 2 実験

**細胞培養**: 細胞はダルベッコ改変イーグル培地に 10%のウシ胎児血清を添加した培地で培養した (37°C, 5%炭酸ガス培養器内)。

**照射試料の調整**: 細胞は照射用ディッシュのポリプロピレン膜 (5 $\mu$ m 厚) 又はマイラー膜上に 2~3x10<sup>5</sup> 個をプレーティングし 12~16 時間培養した。照射前に細胞核はヘキスト 33258 (1 $\mu$ M) で染色した。

**マイクロビーム X 線の照射**: PF BL27B の Si 二結晶分光器とスリットでエネルギー 5.35 keV、サイズ 10  $\mu$ m x 10  $\mu$ m のビームを作製し照射に用いた。ビームの照射線量率はおおよそ 7.7x10<sup>-3</sup> C/kg (30 R)/sec であった。照射用ディッシュをビームラインの蛍光顕微鏡にセットし, 細胞核蛍光画像を取得し選択した細胞核を任意の線量で照射した。

**細胞遊走**: 遊走は改変 Boyden チェンバーを用い測定した。トランスウェル膜上面に 10,000 個の細胞をプレーティングし膜を通過した細胞数を測定した。

#### 3 結果と考察

選択されたグリオーマ A172mtp53 の細胞核を照射後に 24 時間培養し, その後細胞集団 (ディッシュ上の全細胞) の遊走を調べた。表 1 に示すように実験間で照射効果が安定していない。線量 0.129 C/kg(500 R)の場合, 細胞核 40 個の照射で遊走への影響があるようにみえるが不確実性が高い。また線量 0.0258 C/kg で 200 個の照射の場合, 遊走の変化を認めた。細胞核照射された細胞から遊走誘導因子が放出されている可能性があり, またバイスタンダー効果がみえるには一定数の細胞の照射が必要であるが, さらに実験が必要である。

表 1: 照射細胞核数と遊走

実験	遊走細胞数の比 (sham 照射の場合を 1)	
	0.129 C/kg 照射, 照射核数 40	
1	2.3	
2	1.4	
3	1.1	

実験結果が不安定な一因として, 照射実験の開始時と終了時とでビーム位置が異なっていたことがあり, 標的細胞核が正確に照射されなかった可能性が想定される。コンタミによる試料消失も限局されたデータの一因である。

#### 参考文献

- [1]K.Kobayashi et al., Nuci. Instrum. Methods **A467-8** (2001) 1329.  
 [2]N.Usami et.al., Radiat.Prot.Dosimetry, **122** (2006) 307.  
 [3]K.Kobayashi et al., J. Biomed Nanotechnol. **2** (2006) 116.  
 [4]M.Maeda et. al., J.Radiat.Res. **49** (2008) 171.  
 [5]M.Tomita et al.,Radiat Res. **173** (2010) 380.  
 \* hmaezawa@medsci.tokushima-u.ac.jp