

放射光 X 線マイクロビームを用いた細胞照射によって誘導される 周辺の非照射細胞の細胞死への NO の関与

前田 宗利¹、富田 雅典²、宇佐美 徳子¹、小林 克己¹

(¹高エネ機構 物構研 放射光、²電中研 原技研 放射線安全)

我々の研究グループでは、放射光単色 X 線 (5.35 keV) マイクロビーム細胞照射装置を用い、低線量放射線の生物影響研究を行っている。本装置の光源である放射光は指向性に優れており、スリットを用いて容易に 5 ミクロン角以上の任意のサイズのビームを得ることができる。この特徴を利用して、細胞あるいは細胞核の一部などの任意の標的を照射し、それらを個別に追跡して照射効果を検出することができる。我々は、低線量域における細胞死と照射領域との関係を明らかにするために、細胞核あるいは細胞全体を X 線マイクロビームで照射し、照射された細胞の周辺に存在する非照射細胞 (バスタンダー細胞) の生存率を測定した。すでに、放射光学会等において、細胞質へのエネルギー付与がない場合 (細胞核照射) に、低線量域でバスタンダー細胞死の増大が誘導されることを報告している。照射された細胞からバスタンダー細胞への情報伝達には、種々の因子が関与していると報告されている。我々は、それらの中から一酸化窒素ラジカル (NO) に着目し、低線量域でのバスタンダー細胞死誘導における NO の関与について調べた。

【方法】

マイクロビーム照射装置専用の細胞培養皿に 2,000 個の V79 細胞 (チャイニーズハムスター肺由来細胞) を播種し、一定領域 (6 ミリ角) 内の 5 個の単独細胞の細胞核あるいは細胞全体をそれぞれ 10 ミクロン角、50 ミクロン角の X 線で照射した。照射直後に、NO の特異的スカベンジャーである Carboxy-PTIO* (20 μM) を添加した培地と交換し 60 時間培養した。コロニーあたりの細胞数から細胞の生死を判定し、バスタンダー細胞の生存率を求めた。

*2-(4-Carboxyphenyl)-4,4,5,5-tetra-methylimidazole-1-oxyl 3-Oxyde, Sodium Salt

【結果と考察】

Carboxy-PTIO 無添加の場合、(1) 細胞核を照射した場合には、バスタンダー細胞死が低線量域で増大し、その後、線量に関係なく安定的にバスタンダー細胞死が誘導されること、(2) 細胞全体を照射した場合には、この二相性は見られず、線量に関係なく安定的にバスタンダー細胞死が誘導されることから、(a) 安定的にバスタンダー細胞死を誘導するメカニズムの他に、(b) 細胞質へのエネルギー付与を感知し、バスタンダーシグナルの生成を制御するメカニズムが存在すると考えられる。Carboxy-PTIO の添加によって、細胞全体照射、細胞核照射によって誘導されるバスタンダー細胞死の大部分が抑制されることから、上述の 2 つのメカニズムにおいて NO が情報伝達因子として働いていると考えられる。少なくとも 2 つの異なる経路によってバスタンダーシグナル (NO) の生合成が制御されていることが示唆された。低線量域では、細胞質へのエネルギー付与によって誘導される応答が、細胞の生存に重要な役割を果たしていると考えられる。現在、細胞質へのエネルギー付与による細胞応答の詳細を解明するために、細胞質のみに X 線を照射する手法の開発を進めている。