

放射光X線を用いたヒト培養細胞におけるバイスタンダー細胞死の解析

○富田雅典¹、前田宗利^{1,2}、宇佐美徳子²、小林克己²

¹電中研・原技研・放射線安全、²高エネ機構・物構研・放射光

【背景と目的】 放射線誘発バイスタンダー応答は、放射線が直接ヒットした細胞の周辺に存在する放射線がまったくヒットしなかった細胞にも、放射線がヒットした細胞と同様の生物影響が誘導される現象である。放射線がヒットしなかった細胞にまで影響が誘導されるならば、放射線防護において用いられている直線閾値無しモデルにより、中・高線量域から外挿されるリスクよりも、低線量域では高くなると考えられるため、放射線リスク評価における重要な課題となっている。しかしながら、これらの結果は、主に高 LET（単位飛跡長さあたりに付与されるエネルギー）の α 線等を用いたものであり、X線や γ 線などの低 LET 光子放射線によるバイスタンダー応答については十分明らかになっていない。本研究は、放射光X線によるヒト正常細胞におけるバイスタンダー応答を明らかにするため、BL-27B に設置された放射光X線マイクロビーム細胞照射装置と BL-27A を用いて研究を進めている。

【方法】 ヒト正常細胞として、ヒト胎児肺由来線維芽細胞 WI-38 を用いた。WI-38 細胞は、照射 1 週間前にディッシュに播種し、コンフルエント（細胞が密になり増殖が停止した状態）にした。BL-27A では、35mm プラスチックディッシュの中央 2 mm×2 mm の部分（ディッシュ全体の 0.4% の面積）に、リンK 殻吸収端の 2.153 keV および低エネルギー側の 2.147 keV の単色X線を照射した。BL-27B のマイクロビームでは、ポリプロピレンをベースとした特製ディッシュ上の細胞の核のみに、直径 5 μm ×5 μm の 5.35 keV 単色X線を照射した。照射 24 時間後にディッシュ上すべての細胞を回収した後、希釈してシャーレに播種し、形成したコロニー数から細胞生存率を求めた。各種阻害剤、スカベンジャーは照射 2 時間前に添加した。

【結果と考察】 2.153 keV と 2.147 keV のいずれのエネルギーにおいても、ディッシュ全体の 0.4% の面積にしか照射していないにもかかわらず、細胞生存率は約 83% にまで低下した。この生存率の低下は、活性酸素種（ROS）のスカベンジャーである DMSO、細胞間結合の 1 種であるギャップ結合の阻害剤 lindane、誘導型一酸化窒素（NO）合成酵素（iNOS）の阻害剤アミノグアニジン（AG）、および NO ラジカルのスカベンジャーである c-PT10 のいずれでも抑制された。マイクロビームをディッシュ上約 70 万細胞の内、中心の 5 細胞にのみ照射した場合、0.25-1.5 Gy において細胞生存率は 85% まで低下したが、2-5 Gy では生存率の低下は認められなかった。生存率の低下が回復した 2 Gy は、X線のブロードビームを照射した場合に、1 細胞あたり平均して 1 個の致命的損傷が生じると考えられる生存率 37% となる線量 (D_0) に相当することから、バイスタンダー細胞死の誘導には、照射細胞の生存が必要である可能性が示唆された。細胞生存率の低下は、DMSO では抑制されず、lindane でわずかに抑制された。一方、AG、c-PT10 により、生存率は 97% まで回復した。以上の結果から、バイスタンダー応答の伝達機構は、全体に占める照射細胞数（照射領域）に依存し、照射細胞数が多くなるほど、ROS とギャップ結合の関与が高くなるが、主に NO ラジカルがバイスタンダー応答のイニシエーター・メディエーターであることが明らかとなった。