

## 放射光単色X線マイクロビームによるヒト正常細胞の致死と遺伝子突然変異に対するバイスタンダー効果解析

鈴木雅雄<sup>1</sup>、鶴岡千鶴<sup>1</sup>、宇佐美德子<sup>2</sup>、古澤佳也<sup>1</sup>、小林克己<sup>2</sup>

<sup>1</sup>放医研・重粒子・粒子線生物、<sup>2</sup>高エネ機構・物構研・放射光

【目的】 近年、高 LET 粒子放射線マイクロビームを利用した照射実験から、直接粒子線のヒットを受けた細胞がそのストレスに対して“一次的”な応答をした結果、その近傍にある直接粒子線のヒットを受けていない細胞に何らかのメカニズムによって“二次的”な応答が生じ、細胞集団として放射線生物作用を修飾する、とするバイスタンダー効果が注目を集めている。バイスタンダー効果は、特に低線量(率)放射線の生物影響研究に重要な現象であるが、その現象論・メカニズムは現段階で不明な点が多い。本研究は、低 LET 電磁波放射線マイクロビームを用い、高 LET 粒子線で報告されている細胞応答(バイスタンダー効果)とは異なる現象とその誘導メカニズムを明らかにする。その上で放射光X線マイクロビームを利用した新しい難治がん治療への発展性・可能性のためや極低線量放射線被曝に対する人体影響リスク評価のために必要となる生物学的基礎実験データの集積を図るために計画した。

【実験方法】 細胞は、ヒト胎児皮膚由来正常線維芽細胞を用いた。細胞致死効果はコロニー形成法による増殖死を検出した。突然変異誘発は *hprt* 遺伝子座を標的として、6 チオグアニン耐性コロニーの出現頻度より突然変異誘発頻度を算出した。単色X線マイクロビームの照射は、BL-27Bにおいて5.35keVに単色化されたマイクロビームを用いて行った。直径36mmのプラスチック製のリングに厚さ7.5 $\mu$ mのpolyimideフィルムを張り、その上にヒト正常細胞をコンフルエント状態に培養した照射サンプルに対して284点の格子状に設定した照射点にビームサイズを20 $\mu$ m x 20 $\mu$ mに絞ったマイクロビームを0.4および0.8Gy照射し、生物効果を解析した。さらにバイスタンダー効果誘導メカニズムを探る目的で、コンフルエント状態で隣細胞同士の接触による増殖阻止能が働く正常細胞の特性に注目し、ギャップジャンクションの特異的阻害剤を併用して、細胞間情報伝達機構のバイスタンダー効果への関与を調べた。

【結果および考察】 今回実施した照射条件では、マイクロビームを直接照射された細胞は全体の0.2%程度と計算される。得られた実験結果から、ギャップジャンクション特異的阻害剤の併用の有無に係わらず、細胞致死効果および突然変異誘発効果において直接照射された細胞数から予測される生物効果を超える実験データは得られなかった。この結果は、同じ照射条件で行った炭素イオンマイクロビームの実験結果とは異なるもので、粒子放射線と電磁波放射線によるバイスタンダー効果の違いを示唆するものである。