

立教大学学術推進特別重点資金 (立教 S F R)
大学院生研究
2005 年度研究成果報告書

研究科名	立教大学大学院			理学 研究科	生命理学	専攻
指導教員	所属・職名		氏 名			
	立教大学理学部・教授		檜 枝 光 太 郎 印			
自然・人文の別	○自然・人文		個人・共同の別	個人・○共同 2 名		
研究課題名	単色 X 線 エネルギー 依存性 を用いた バイスタンダー (bystander) 効果 のメカニズム 解析					
研究代表者	在籍研究科・専攻・学年		氏 名			
	理学研究科・生命理学専攻・博士課程前期課程 2 年		夏 目 敏 之 印			
研究組織	在籍研究科・専攻・学年		氏 名			
	立教大学・理学研究科 生命理学専攻 博士課程後期課程 3 年		小 西 輝 昭			
研究期間	2005 年度					
研究経費	497 千円					

研究の概要 (200~300 字で記入、図・グラフ等は使用しないこと。)

bystander 効果誘発のメカニズムは放射線エネルギーの吸収から生物効果誘発までの過程で多くの不明な点がある。本研究では、電離密度の異なる電離放射線照射が bystander 効果に与える影響から、放射線エネルギー付与と bystander 効果の関係を明らかにすることを目的とした。実験方法は、照射していない HSG 細胞と 5, 12.5 keV 単色 X 線を照射した HSG 細胞を同時培養し培養液を介した bystander 効果を測定するというものである。さらに、標準 X 線についても実験を行い比較した。行った測定は以下の①-④である。①照射細胞 (ドナー細胞) の細胞致死効果、②ドナー細胞の微小核 (micro nucleus, MN) 形成率測定、③ドナー細胞と共培養した非照射細胞 (リシピエント細胞) の MN 形成率測定、④リシピエント細胞の表面接着効率 (plating efficiency, PE) 測定。

キーワード (研究内容をよく表しているものを 3 項目以内で記入。)

{ バイスタンダー効果 } { 単色 X 線 } { エネルギー依存性 }

研究成果の概要 (図・グラフ等は使用しないこと。)

① - ④ について、結果を報告する。

① ドナー細胞の細胞致死効果

5, 12.5 keV 単色 X 線および標準 X 線を照射した HSG 細胞の生存率を取得した。生存率を linear-quadratic (LQ) モデルの式

$$S = \exp(-\alpha D - \beta D^2)$$

でフィットさせた。この生存率曲線から生存率 10% を与える線量 (D_{10}) を求め、生存率曲線の比較に用いた。標準 X 線の D_{10} の対す比として RBE を求めた。 D_{10} は標準 X 線で最も大きく、12.5 keV 単色 X 線で最小となった。RBE は 5 keV で 1.59、12.5 keV で 1.77 となり、標準 X 線と比較して単色 X 線は致死効果を起こしやすいことが明らかになった。

② ドナー細胞の MN 形成率測定

2 核化させたドナー細胞中に形成された MN 数をカウントし、2 核化細胞数に対する MN 数の割合を求めた。5, 12.5 keV および標準 X 線の照射後の MN 割合から照射していないドナー細胞における MN 割合を差し引いた値を MN 形成率 (Y_{MN-D}) とした。カウントした 2 核化細胞数は 1000 ~ 3000 個である。算出した MN 形成率を

$$Y_{MN-D} = \alpha D + \beta D^2$$

でフィットし MN 形成率曲線を描いた。MN 形成率 10% を与える線量である D ($Y_{MN-D} 0.1$) を求めた。この値を用いて、MN 形成率曲線を比較した。生存率の場合と異なり、最大は 12.5 keV、最小は 5 keV となり、標準 X 線の場合はその中間となった。したがって、 D ($Y_{MN-D} 0.1$) で比較した RBE は 12.5 keV では 1 より小さくなり 5 keV では 1 より大きくなった。

③ リシピエント細胞の MN 形成率測定

リシピエント細胞における MN 形成率についてもドナー細胞の場合と同様にして測定した。リシピエント細胞であることを明らかにするため、MN 形成率を Y_{MN-R} と表した。標準 X 線については、MN 形成率はドナー線量 3 Gy まで増加し 0.020 と最大になり、そのあと 7 Gy にかけてゆっくりと減少した。実験結果は Shao らが提案した次式でフィットした。

$$Y_{MN-R} = aD \exp(-c \times Y_{MN-D}) + bD^2 \exp^2(-c \times Y_{MN-D})$$

a, b : パラメータ

C : MN が即時の細胞死を引き起こす確率

D : donor dose (Gy)

R : 単位 Gy あたりにダメージを受け、かつ生きている 1 つの細胞から放出される RS (Reactive Species : NO など) の数

Y_{MN-D} : ドナー細胞の MN 形成率曲線

単色 X 線照射においては、2 種の X 線エネルギーの比較においてもコントロールレベルとの有意差が見られなかった。

研究成果の概要 つづき

④ リシピエント細胞の PE 測定

標準 X 線および 5, 12.5 keV の単色 X 線照射したドナー細胞と同時培養を行ったリシピエント細胞の PE を測定した。標準 X 線については、ドナー線量の増加に対し PE は増加し 9 Gy で 1.23 であった。5 keV の単色 X 線では、ドナー線量約 2 Gy で最大ピークを示し、それ以上の線量になると減少していった。12.5 keV の単色 X 線においては、ドナー線量の増加に対し減少していった。

本実験において単色 X 線の細胞致死は、 D_{10} の RBE が 5 keV、12.5 keV でそれぞれ 1.59、1.77 でありエネルギーの高い 12.5 keV がより細胞致死を引き起こしやすいという結果となった。しかし、ドナー細胞の MN 形成率はエネルギーの低い単色 X 線の方が高いという結果となった。X 線はエネルギーが低いほど電離密度が高くなる。その結果直接効果が大きくなり DSB が生じやすくなるという研究報告がある。MN が分離型の染色体異常であるということを考えると、エネルギーの低い単色 X 線ほど MN の形成率が高いのは正しい結果と言えるだろう。

放射線照射による細胞致死の主要因が DSB だと考えるとエネルギーの低い単色 X 線の方が致死効果が高いと予想できるが、本実験結果では 12.5 keV の方が致死効果が高かった。M. Tomita の実験によると 2.153 keV ~ 10 keV の領域において、DSB はエネルギーの低いほうが誘発しやすいが、SSB はエネルギーの高いほうが誘発されやすい。このことから、本実験において 12.5 keV の致死効果が高かったのは SSB の寄与が大きいと考えられる。

Y_{MN-R} は標準 X 線と単色 X 線において、両方とも一度コントロールの値より上昇し、その後 Donor 線量の増加に従い徐々に下がりコントロールレベルに近づいた。しかし Y_{MN-R} の最大ピークは単色 X 線が 0.5 Gy 以下で示すのに対し、標準 X 線は約 3 Gy 付近でピークを示した。

リシピエント細胞の PE は Y_{MN-R} と似た挙動を示した。PE の近似式は、Shao モデルの式に 1 を加えたものである。PE の変化も Donor 細胞から放出される因子に起因するのであれば、Shao のモデルでフィットできるということである。Recipient 細胞の PE はコントロールの PE を 1 として規格化した相対的な値であるため、フィット式は Shao モデルの式に 1 を加え、これを PE のフィット式として用いた。しかし、このフィット式では bystander 効果による PE は 1 を下回らないということになる。しかし、実際には 1 を下回るという研究報告がされていることから、新たなフィット式を考える必要がある。

リシピエント細胞の MN 形成および PE 上昇がともに 0.5 Gy 以下の照射線量で最大値を示したことから、これらの効果は共通した原因因子が関与していることが示唆される。よって今後原因因子をつきとめ、検出を行いバイスタンダー効果のメカニズム解明につながる情報を得たいと考えている。