

プレスリリース

被ばく線量が少ない細胞では 細胞質への被ばくの有無が生と死を分ける ～放射光 X 線を用いた細胞局所照射技術で解明～

2021年7月6日

公益財団法人若狭湾エネルギー研究センター
一般財団法人電力中央研究所
大学共同利用機関法人高エネルギー加速器研究機構
国立大学法人福井大学

【ポイント】

- 放射光 X 線マイクロビームによって細胞全体、細胞核、細胞質を照射する細胞局所照射技術を駆使
- 細胞中の放射線にあたった領域（核や細胞質）に応じて細胞の運命（生死）が大きく変化
- 被ばく線量が少ない細胞では、細胞質に放射線があたっていないと細胞死が増大し、あたっていると生き残る細胞が増加する
- この生死の競合メカニズムは DNA 修復に関係するたんぱく質 ATM^{※1} により制御されている

【概要】

公益財団法人若狭湾エネルギー研究センター（エネ研、理事長：石塚博英、福井県敦賀市） 研究開発部 粒子線医療研究室の前田宗利主任研究員、一般財団法人電力中央研究所（電中研、理事長：松浦昌則）の富田雅典上席研究員、大学共同利用機関法人高エネルギー加速器研究機構（KEK、機構長：山内正則）の小林克己名誉教授および KEK 物質構造科学研究所の宇佐美徳子講師、国立大学法人福井大学（福井大、学長：上田孝典）の松本英樹シニアフェローらは共同で、最小 5 マイクロメートル（0.005 ミリメートル）角から自由にビームのサイズを変えることのできる**放射光 X 線マイクロビーム細胞照射技術**を駆使した研究を進め、**低線量の放射線にさらされたヒトやハムスターの細胞では、細胞核だけではなく細胞質にも放射線があたっていないと DNA に生じた放射線による損傷を直す仕組みが十分に働かない**ことを解明しました。

これまで、放射線の生物への影響を考える場合には細胞核の応答が重要視されてきましたが、被ばく線量が小さい場合には細胞質の応答も細胞の運命決定に大きく関与しており、細胞質への照射の有無による生と死の競合が生じることが、本研究によって初めて明らかになりました。これらの知見は、低線量放射線被ばくによる健康影響の解明につながるだけでなく、放射線によるがん治療の効果をさらに高める薬剤の開発にもつながる重要な成果といえます。

本研究成果は、**2021年7月5日付けで、英国科学雑誌の Scientific Reports (Springer Nature 社) に掲載**されました。なお、Springer Nature 社は世界最大規模の学術書籍出版社で、Nature などの有力な学術誌を多数発行しています。Scientific Reports は、影響力のあるオープンアクセスの総合科学系学術誌の一つとして知られています。

1. 背景

放射線の線量が少なくなるにつれて生物を形作っている細胞の集団に均一に放射線があたらなくなり、細胞核や細胞質のみ、あるいはその双方に放射線があたった細胞、全く放射線があたらなかった細胞が混在することになります。私たちの研究グループでは、放射光 X 線の指向性の高さを利用し、細胞核のみ、細胞質のみ、あるいは細胞全体を X 線マイクロビームによって照射することのできる細胞局所マイクロビーム照射技術を世界で初めて確立し（図 1）、細胞内の照射領域と細胞の生死の関係（放射線感受性）について評価しました。その結果、細胞核に同じ量の X 線があたるようにマイクロビームで照射した場合、細胞核だけを照射したときよりも細胞全体を照射したときには、細胞が受けとった X 線の量は大きくなるにもかかわらず細胞が死ににくいことが分かりました。細胞核に同じ質と量の放射線があたっている場合、細胞の核にできる DNA 損傷の質や量はほとんど等しいと考えられるため、DNA の損傷が細胞死の主な原因であるというこれまでの考え方だけではこの現象を説明することは困難です。核と細胞質の緊密な連携によって放射線にさらされた細胞の運命が決定されると考えられることから、細胞質の放射線応答が細胞の放射線感受性に影響を与えるメカニズムについて詳しく調べました。

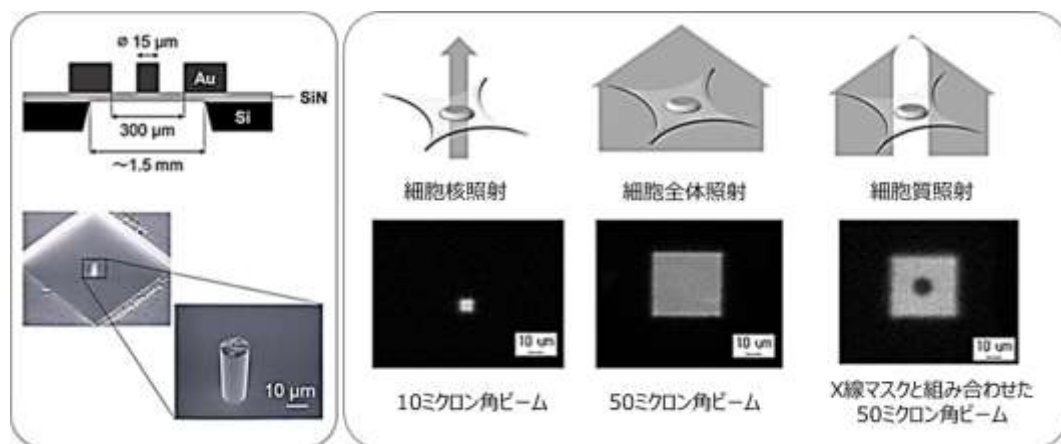


図 1：細胞質照射用の特殊な X 線マスク（左図、上：マスクの概要図、下：電子顕微鏡写真）と放射光 X 線マイクロビームによる細胞局所照射（右図、上：照射のイメージ、下：照射用ビーム写真）。

KEK 物質構造科学研究所の放射光実験施設フォトンファクトリー BL-27B において、細胞核よりも小さなビーム（10 ミクロン角など）や、細胞よりも大きなビーム（50 ミクロン角など）を使用できる放射光 X 線マイクロビーム細胞照射装置を開発しました。細胞核のみを照射する場合には小さなビーム、細胞全体を照射する場合には大きなビームを用います。また、特殊な X 線マスクを使って細胞核部分は照射せずに細胞質の大部分を照射する手法を確立しました。

2. 研究成果の特長

① 細胞内の照射領域と細胞死の関係を明確化

これまで、放射線被ばくによる細胞死は、放射線によって細胞核の中の DNA に修復が困難な DNA 2 本鎖切断（DSB）^{※2} が生じることで起こると考えられてきました。このため、細胞核に同じ量のマイクロビームがあたっている場合、細胞核だけを照射しても細胞全体を照射しても、DSB の質や量はほとんど等しいため、細胞死の頻度もほとんど変わらないと考えられました。ところが、ハムスター細胞の細胞核だけを照射した場合には、細胞全体を照射した場合よりも死ぬ細胞の割合が明らかに大きくなりました（図 2）。また、細胞質だけを照射した場合にも細胞死は起こりますが細胞全体や細胞核を照射した場合と比べるとその程度は大きくありませんでした。本研究により、細胞核と細胞質の両方に X 線があたった場合には細胞の生存性を上昇させる仕組みが備わっていることを明らかにしました。

② 細胞内の照射領域と DSB 修復の関係を明確化

DSB の状態が同じであっても、細胞質が照射されているかどうかで細胞の生存性が変化したことから、細胞の DSB 修復と照射領域の関係を調べました。放射線によって DSB が生じると、その場所に様々なタンパク質が集まってきて修復しようとする。この時、DSB の近くにあるヒストン H2AX^{※3} が大量にリン酸化されて γ (ガンマ)-H2AX フォーカスと呼ばれる塊を作ることで、DSB 修復に働いているたくさんのタンパク質を損傷した場所に集める働きをしていると考えられています。この γ -H2AX フォーカスは、DSB 修復が行われているかどうかを確認するための指標（マーカー）として使うことができます。ハムスター細胞やヒト細胞の全体を照射した場合には細胞にあたっている X 線の量が少ない場合にも γ -H2AX フォーカスが観察されましたが、細胞核だけを照射した場合には核にあたっている X 線の量が一定の量を超えないと γ -H2AX フォーカスが観察できないことが明らかになりました（図 3）。細胞にあたる放射線の量が少ない場合、核の中に生じた DSB の質や量が等しいにもかかわらず、細胞質に X 線があたっていない場合には DSB を修復する仕組みが十分に働かないことが明らかになりました。

③ 細胞内の照射領域と DSB 修復に関わる遺伝子の働きを特定

細胞質への照射がある場合とない場合でヒト細胞において DSB に対する応答に関わっている 84 の遺伝子にどのような変化が生じているのか調べました。細胞質に放射線があたっていない細胞核照射では細胞死の誘導に関係する 3 遺伝子 (*ABL1*、*CDC25C*、*TP73*) が、細胞質にも放射線があたっている細胞全体照射では DSB 修復を行うために細胞周期^{※4}を停止させる遺伝子 (*CDKN1A*) が顕著に活性化しました。これらの遺伝子の活性化は、いずれも ATM というタンパク質によって調節されていることから、細胞質への照射の有無によって ATM の働きが大きく変化することが分かりました。

以上の成果をまとめると、ハムスターやヒトなどの哺乳類では、細胞質に X 線があたっていない細胞核照射では核内に存在する ATM を介して細胞死が誘導されるのに対し、細胞質と細胞核の双方に X 線があたっている場合には、ATM が細胞質から供給されることで細胞周期が停止されて DSB 修復が行われるために、生存する細胞が増加すると考えられます。低線量の放射線にさらされた細胞では、細胞核に由来する細胞死を誘導する機構と細胞質に由来する DSB を修復して生き残らせようとする機構が競合しており、これらが ATM によって調節されていることが分かりました（図 4）。

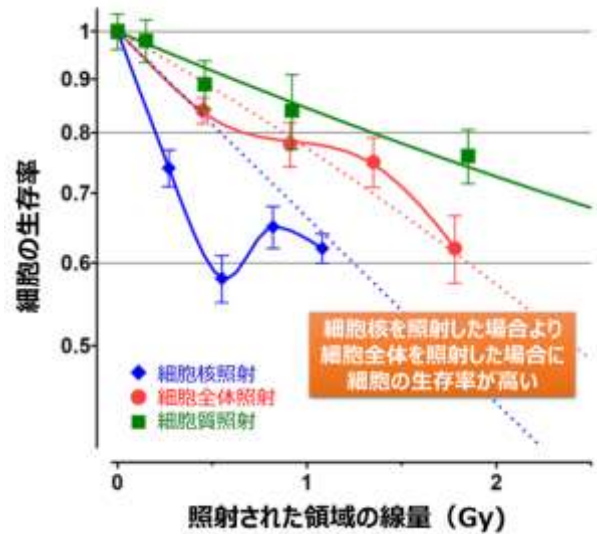


図 2 細胞核（青）、細胞全体（赤）、細胞質（緑）を放射光 X 線マイクロビームで照射したハムスター細胞の生存率を、照射された領域の線量を基準に比較

（細胞核照射と細胞全体照射の細胞核に与えられた線量は等しくなります）

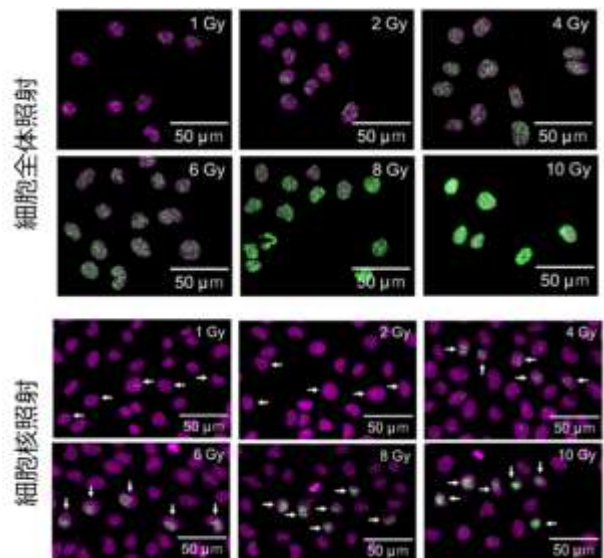


図 3 ハムスター細胞の全体を照射した場合（上）と細胞核を照射した場合（下、矢印は照射した細胞）の γ -H2AX フォーカス形成

（ヒト細胞でも同様の結果が得られました）

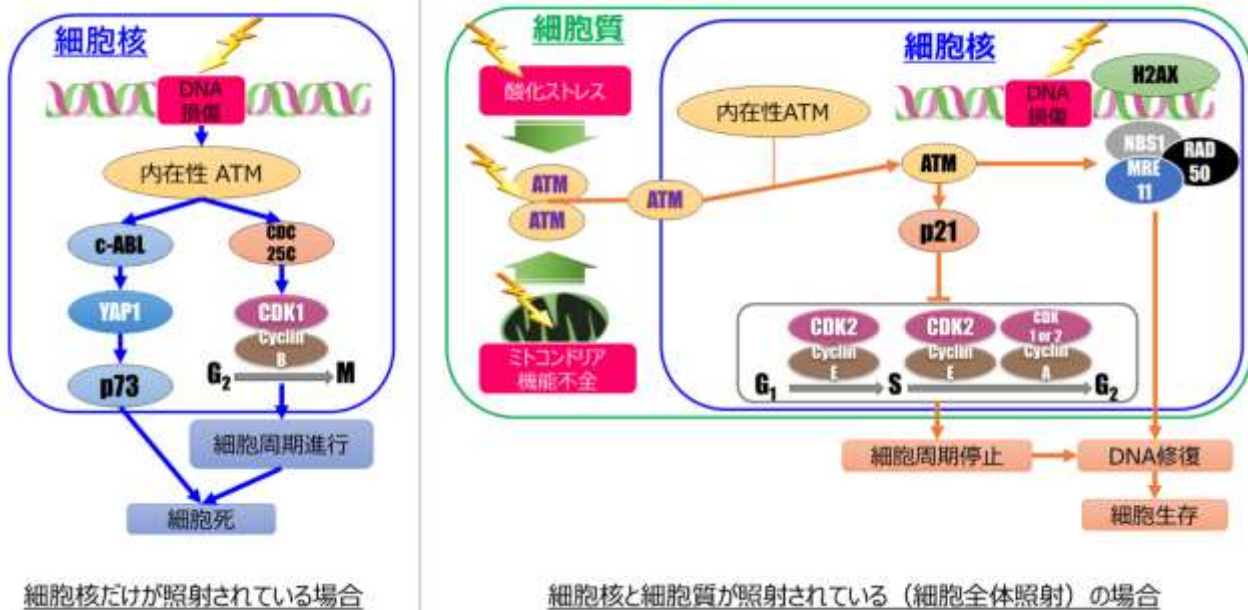


図 4 本研究の成果から考えられる細胞核照射（左）と細胞全体照射（右）における細胞の生死を誘導する仕組み

3. 本研究成果の意義と今後の展望

放射線の影響は、細胞核内の DNA に生じた損傷、特に最も重篤な損傷である DSB に起因して生じると考えられてきました。また、放射線にさらされた細胞では、DSB を修復するための仕組みが被ばくの直後から活性化することや放射線に弱い病気（放射線感受性疾患）の原因となる遺伝子の多くが DSB の修復に関わっている遺伝子であることから、細胞質の役割は重要視されてきませんでした。ところが、本研究から、マイクロビームで細胞核のみを照射した場合と、細胞質のみ、細胞核と細胞質を照射した場合では、照射された細胞における ATM を介した DNA 損傷応答や細胞周期制御などが大きく異なることが分かりました。放射線によるがん治療の効果を高める新しい薬の開発や放射線の健康影響を正しく評価するために重要な発見といえます。また、これまでの教科書に載っていた考え方では説明することのできないこれらの現象は、ATM が生体内の情報ネットワークのハブ^{※5}として働いている可能性を示していると考えられるため、さらに詳しく研究を進めてその機能を明らかにしていきます。

<用語説明>

- ※¹**ATM (ataxia telangiectasia mutated)** : ヒト毛細血管拡張性運動失調症 (A-T) の原因遺伝子で、遺伝子産物である ATM タンパク質は DNA 修復において中心的な役割を果たしている分子。
- ※²**DNA 2 本鎖切断 (DSB)** : 細胞にとって最も脅威となる DNA 損傷で二重らせん構造の DNA の両方のらせん構造が同じ箇所切断される損傷。放射線による細胞死の主な原因とされている。
- ※³**ヒストン H2AX** : 細胞核内での DNA 構造を形作るのに働いているタンパク質の一つ。DSB が生じると ATM などによってリン酸化されて、DSB が生じているところにγ(ガンマ)-H2AX フォーカスを形成する。免疫蛍光染色という手法を用いて観察することができるため、DSB の指標（マーカー）として広く用いられている。
- ※⁴**細胞周期** : 細胞の DNA が複製された後、1 個の細胞が 2 個の細胞に分裂して増殖する周期。
- ※⁵**ハブ** : ATM は細胞内あるいは細胞間で情報をやり取りする際に相互の通信を中継して情報通信分野で用いられるハブ (hub) と似たような働きをされると考えられる。

<論文タイトルと著者>

論文タイトル : Exposure of the cytoplasm to low-dose X-rays modifies ataxia telangiectasia mutated-mediated DNA damage responses

著者 : Munetoshi Maeda (エネ研), Masanori Tomita (電中研), Mika Maeda (エネ研), Hideki Matsumoto (福井大), Noriko Usami (KEK), Kyo Kume (エネ研), and Katsumi Kobayashi (KEK)

掲載誌 : Scientific Reports

DOI: 10.1038/s41598-021-92213-z

以上