

平成30年6月21日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11921

研究課題名(和文) 宇宙放射線による筋運動変調に関わるホメオスタシス維持機構の解析

研究課題名(英文) Analysis of homeostasis mechanisms underlying the cosmic radiation-induced modulation of muscular movements

研究代表者

鈴木 芳代 (Suzuki, Michiyo)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・高崎量子応用研究所 放射線生物応用研究部・主幹研究員(定常)

研究者番号：10507437

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、宇宙放射線によって誘導される線虫の筋運動の低下や停止が速やかに回復する現象(筋運動変調)に着目し、この回復における「ホメオスタシス(生体恒常性)維持機構」の関与を明らかにすることを目的とした。

その結果、放射線誘発酸素ストレスが筋運動の低下に関与していること、線虫に備わるホメオスタシス維持機構が、放射線照射後の筋運動を速やかに回復させるばかりか、寿命にポジティブな影響をもたらすこと、放射線の線量の総量が同一であれば、分割照射の方が線虫への負担が軽減される可能性があることなどを明らかにした。一連の研究成果を国際会議等で発表するとともに、学術論文(3報)として発表した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated the homeostasis mechanisms underlying the cosmic radiation-induced modulation of muscular movements in *C. elegans*. The results of this study have been published as three academic papers as well as presentation at the several international conferences.

研究分野：放射線生物学

キーワード：放射線影響学 *C. elegans*

1. 研究開始当初の背景

宇宙飛行士の長期宇宙滞在のリスクをはじめとする放射線の生体影響を考える際には、発がんリスクと共に、生命維持に必要な生体機能に対する放射線被ばくの影響を知ることが重要である。また、宇宙環境のみならず、2011年3月の東日本大地震に伴う東京電力福島第一原子力発電所の事故対応のため、長期間に渡って原発の廃止措置作業に当たる作業員等に対する放射線影響についても、多様な視点からの調査と評価が必要である。ところが、動物の細胞、組織レベルでの放射線影響に関する知見が蓄積されてきている一方で、個体の生体機能への影響に関する知見は限定的である。

そこで、研究代表者らは、筋運動を指標とした生体機能レベルの実験系が確立されており、運動制御を担う神経が既知であるモデル生物の線虫 (*C. elegans*) を用いて、宇宙放射線を模擬した重イオン (重粒子線) やガンマ線の筋運動への影響を調べてきた。その結果、放射線全身照射により、線虫の全身運動 (前進、後退、方向転換) が一時的に低下することや咽頭筋運動 (餌の咀嚼、嚥下) が一時的に停止することを突き止めた。また、このような筋運動の低下や停止は、速やかに回復することも明らかにした。

動物には、外的ストレスを受けた際に生体内の状態を維持しようとする生体恒常性 (ホメオスタシス) の維持機構が備わっているが、放射線照射直後に低下したり停止したりした線虫の筋運動の速やかな回復も、線虫に元来備わるホメオスタシス維持機構により実現されている可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では、宇宙放射線によって誘導される線虫の筋運動の低下や停止が速やかに回復する現象 (筋運動変調) に着目し、この回復における「ホメオスタシス (生体恒常性) 維持機構」の関与を明らかにすることを目的とする。具体的には、

- (1) 放射線に対するホメオスタシス維持機構における酸化ストレスの関与を解析する
 - (2) 放射線に対するホメオスタシス維持機構に関わるストレス応答遺伝子を探索する
 - (3) 放射線に対するホメオスタシス維持機構を強化し得るか否かを検討する
- の3項目を達成目標とする。

本研究で明らかにする「放射線による筋運動の低下や停止を速やかに回復させるホメオスタシス維持機構」に関する知見は、宇宙飛行士の長期宇宙滞在のリスクを考える上で重要な個体レベルの放射線影響、ならびにそれに対する「ホメオスタシス維持機構」の理解を深める上で貴重な情報となる。

3. 研究の方法

以下の計画・方法により研究を進めた。

平成 27 年度

- (1) 放射線に対するホメオスタシス維持機構における酸化ストレスの関与の解析
 - a. 筋運動の低下や停止における放射線産生酸化ストレスの関与の解析
 - b. 筋運動の低下や停止とその回復における酸化ストレス消去系の関与の解析

平成 28 年度

- (2) 放射線に対するホメオスタシス維持機構に関わるストレス応答遺伝子の探索
 - a. 放射線の線質とストレス応答遺伝子の発現量の関係の解析 (線質依存性)
 - b. 放射線の線量とストレス応答遺伝子の発現量の関係の解析 (線量依存性)

平成 29 年度

- (3) 放射線に対するホメオスタシス維持機構の強化に関する検討
 - a. 放射線の事前繰り返し照射によるホメオスタシス維持機構の修飾の解析

(1)-(3)の結果をもとに、「放射線による線虫の筋運動の低下や停止を速やかに回復させるホメオスタシス維持機構」の一端を明らかにし、研究成果を学術雑誌等にて発表する。

4. 研究成果

- (1) 放射線に対するホメオスタシス維持機構における酸化ストレスの関与の解析

放射線照射により産生する活性酸素種の一つである過酸化水素に線虫を曝露し、その後の咽頭筋運動を調べた。その結果、放射線照射後と同様の咽頭筋運動の停止とその速やかな回復が観られることが明らかとなった。

次に、酸化ストレスに高感受性を示す線虫の突然変異体に高濃度酸素を曝露または Co-60 ガンマ線を全身照射し、新たに確立した画像解析に基づく姿勢評価法によりその影響を評価した。その結果、酸化ストレスに高感受性を示す線虫の突然変異体では、高濃度酸素曝露後に、全身運動の低下につながる異常姿勢を示す個体が増加すること、ガンマ線全身照射でも同様に姿勢異常を示す個体が増加すること、その運動性は、高濃度酸素曝露及びガンマ線全身照射の両方において減少することなどを見出した。これらの結果から、照射誘発酸素ストレスが筋運動の低下に関与していることが示唆された。

- (2) 放射線に対するホメオスタシス維持機構に関わるストレス応答遺伝子の探索

野生型の線虫に放射線を全身照射し、主に頭部の筋細胞及び神経細胞において発現する遺伝子のうち、ストレス応答に関与する遺伝子を中心として、照射条件の違いによって発現遺伝子及び発現量に違いがあるのかを探る遺伝子発現解析を行った。さらに、これに関連して、放射線由来の酸化ストレスが遺伝子発現の変化にどのように関与しているかを調べる実験や放射線照射が線虫の寿命に及ぼす影響を調べる実験を行った。なお、

放射線照射実験では, Co-60 ガンマ線(低 LET 放射線)照射に加えて炭素イオン(高 LET 放射線)照射も同様にを行い, 線質による応答の違いの有無も調べた.

一連の実験の結果, 線虫に備わるホメオスタシス維持機構が, 放射線照射後の筋運動を速やかに回復させるばかりか, 寿命にポジティブな影響をもたらすことを示唆するデータが得られた.

(3) 放射線に対するホメオスタシス維持機構を強化し得るか否かの検討

多くの動物において, 放射線の繰り返し(分割)照射により放射線適応応答が生じることが確認されている. そこで, Co-60 ガンマ線を複数回に分割して全身照射することで, ホメオスタシス維持機構を強化し得るか? を, 成長率を指標として調べた. 照射時の日齢と成長率との関係も併せて調べた. 実験には野生型の線虫を使用し, 非照射, 成虫に成り立ての3日齢でガンマ線を単回照射, 4日齢で単回照射, 5日齢で単回照射, 3, 4, 5日齢でそれぞれの1/3の線量を照射(分割照射)の5つの条件の線虫の成長を経時解析した. その結果, 照射した放射線の総量が同じ場合, 単回照射した線虫の成長率は, いずれも照射後のどの時点でも非照射線虫に比べて低かった. すなわち, 単回照射が, 成虫の日齢に関わらず, その成長を抑制することを見出した. また, 3日齢から毎日1回ずつ, 3回に分けて分割照射した線虫()の8日齢での成長率は, 5日齢で単回照射した線虫()とは同程度であったが, 3日齢で単回照射した線虫()と4日齢で単回照射した線虫()よりも高かった. このことから, 照射時の発生段階にもよるものの, 放射線の総量が同一であれば, 分割照射の方が線虫への負担が軽減される, すなわちホメオスタシス維持機構を強化し得ることが示唆された.

主に上述の(1), (2)の研究成果について, 学術雑誌や国際会議等で発表した. また, 炭素イオン照射実験のために開発した線虫収容保定用の PDMS マイクロチップに関する特許を出願した.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計3件)

Michiyo Suzuki, Tetsuya Sakashita, Yuya Hattori, Yuichiro Yokota, Yasuhiko Kobayashi, Tomoo Funayama, Development of ultra-thin chips for immobilization of *Caenorhabditis elegans* in microfluidic channels during irradiation and selection of buffer solution to prevent dehydration. Journal of Neuroscience Methods, Vol.

306, pp. 32-37, 2018, 査読有り.

DOI: 10.1016/j.jneumeth.2018.05.025

Sumino Yanase, Hitoshi Suda, Kayo Yasuda, Naoaki Ishii, Impaired p53/CEP-1 is associated with lifespan extension through an age-related imbalance in the energy metabolism of *C. elegans*. Genes to Cells, Vol. 22, pp. 1004-1010, 2017, 査読有り.

DOI: 10.1111/gtc.12540

Michiyo Suzuki, Yuya Hattori, Tetsuya Sakashita, Yuichiro Yokota, Yasuhiko Kobayashi, Tomoo Funayama, Region-specific irradiation system with heavy-ion microbeam for active individuals of *Caenorhabditis elegans*. Journal of Radiation Research, Vol. 58, pp. 881-886, 2017, 査読有り.

DOI: 10.1093/jrr/rrx043

[学会発表](計18件)

鈴木 芳代, 邑上 信子, 築瀬 澄乃, 舟山 知夫, 線虫の成長と寿命に対する高線量放射線の影響. 日本放射線影響学会第60回大会, 2017.

Michiyo Suzuki, Yuya Hattori, Tetsuya Sakashita, Yuichiro Yokota, Yasuhiko Kobayashi, Tomoo Funayama, Analyses of radiation effects on muscular movements in *Caenorhabditis elegans* using microbeam irradiation and simulation based approach. 第55回日本生物物理学会年会, 2017.

Michiyo Suzuki, Nobuko Murakami, Sumino Yanase, Tomoo Funayama, High-dose radiation induces life span extension of *Caenorhabditis elegans*. QST 第1回国際シンポジウム「量子生命科学 -Quantum Life Science-」, 2017.

Sumino Yanase, Naoaki Ishii, Epistatic regulation of DAF-16 via p38 MAPK signaling in molecular compensation of sod-genes and lifespan. 21st International *C. elegans* Meeting, 2017. Michiyo Suzuki, Yuichiro Yokota, Tomoo Funayama, Region specific irradiation of *Caenorhabditis elegans* with heavy ion microbeam. 21st International *C. elegans* Meeting, 2017.

Michiyo Suzuki, Sumino Yanase, Nobuko Murakami, Tomoo Funayama, Quantitative analysis of effects on muscular movements by oxygen exposure and ionizing radiation in *Caenorhabditis elegans*. The 7th International Society of Radiation Neurobiology Conference, 2017.

築瀬 澄乃, 坂下 哲哉, 鈴木 芳代, 高濃度酸素曝露および⁶⁰Coガンマ線照射の線虫の寿命への影響. 第1回QST高崎研シンポ

ジウム, 2017.

山崎 晃, 秋山(張) 秋梅, 鈴木 芳代, 舟山 知夫, 小林 泰彦, 線虫の放射線応答の照射部位依存性とオートファジーの関与の解析 第1回 QST 高崎研シンポジウム, 2017.

曾 智, 坂本 一馬, 鈴木 芳代, 辻 敏夫, 放射線応答解析に向けた線虫の数理モデル構築の試み. 日本放射線影響学会第 59 回大会, 2016.

山崎 晃, 鈴木 芳代, 舟山 知夫, 小林 泰彦, 秋山(張) 秋梅, 高線量放射線照射が線虫の全身運動に及ぼす影響. 日本放射線影響学会第 59 回大会, 2016.

築瀬 澄乃, 須田 斎, 坂下 哲哉, 安田 佳代, 石井 直明, 線虫における放射線ホルミシスと酸素効果. 日本放射線影響学会第 59 回大会, 2016.

鈴木 芳代, 服部 佑哉, 坂下 哲哉, 舟山 知夫, 横田 裕一郎, 小林 泰彦, 宇宙放射線による線虫の運動機能への影響に迫る. 日本放射線影響学会第 59 回大会, 2016 年. Akira Yamasaki, Michiyo Suzuki, Tomoo Funayama, Yasuhiko Kobayashi, Qiu-Mei Zhang-Akiyama, Effects of high dose radiation on locomotion in *Caenorhabditis elegans*. 11th International Congress on Extremophiles (EXTREMOPHILES 2016), 2016.

Sumino Yanase, Hitoshi Suda, Naoaki Ishii, Impaired p53/CEP-1 induces lifespan extension through the metabolic transition in *Caenorhabditis elegans*, Cold Spring Harbor Laboratory, Meetings & Courses Program: Mechanisms of Aging, 2016.

Michiyo Suzuki, Yuichiro Yokota, Tomoo Funayama, Development of a method for the region-specific microbeam irradiation of *C. elegans* and analysis of the effects regarding locomotion. CeNeuro2016 (*C. elegans* Topic Meeting: NEURONAL DEVELOPMENT, SYNAPTIC FUNCTION & BEHAVIOR) & Nagoya BNC Joint Meeting, 2016.

Sumino Yanase, Tetsuji Shoyama, Kayo Yasuda, Hitoshi Suda, Naoaki Ishii, Impaired p53/CEP-1 induces hormetic lifespan extension through the metabolic transition in *C. elegans*. *C. elegans* Topic Meeting: Aging, Metabolism, Stress, Pathogenesis, and Small RNAs, 2016.

鈴木 芳代, 小林 泰彦, 放射線に強い動物にあえて注目する理由 ~ 線虫の運動機能に対する放射線の影響とその回復 ~. 第 53 回アイソトープ・放射線研究発表会, 2016. Michiyo Suzuki, Yasuhiko Kobayashi, Oxidative stress involves in the suppression of muscular movements

following exposure of ionizing radiation in *Caenorhabditis elegans*. The 6th International Society of Radiation Neurobiology Conference, 2016.

〔産業財産権〕
出願状況(計1件)

名称: 生物試料用マイクロチップ
発明者: 平塚 哉, 鈴木 芳代, 坂下 哲哉, 舟山 知夫
権利者: Biocosm 株式会社, 量子科学技術研究開発機構
種類: 特許
番号: 特願 2018-099452
出願年月日: 平成 30 年 5 月 24 日
国内外の別: 国内

〔その他〕

S. Yanase, M. Suzuki, T. Sakashita, QST Takasaki Annual Report 2016, p. 110, 2018, 査読有り.

M. Suzuki, N. Murakami, S. Yanase, Y. Yokota, T. Funayama, QST Takasaki Annual Report 2016, p. 109, 2018, 査読有り.

築瀬 澄乃 他, 線虫 *C. elegans* の SOD アイソザイム間におけるアミノ酸配列および遺伝子間における塩基配列の相同性解析, 大東文化大学紀要, Vol. 54, pp. 17-26, 2016, 査読無し.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 芳代 (SUZUKI, Michiyo)
国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・高崎量子応用研究所放射線生物応用研究部・主幹研究員
研究者番号: 10507437

(2) 研究分担者

築瀬 澄乃 (YANASE, Sumino)
大東文化大学・スポーツ・健康科学部・准教授
研究者番号: 90249061

(3) 連携研究者

坂下 哲哉 (SAKASHITA, Tetsuya)
国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・高崎量子応用研究所放射線生物応用研究部・上席研究員
研究者番号: 30311377

(4) 研究協力者

山崎 晃 (YAMASAKI, Akira)
秋山(張) 秋梅 (ZHANG-AKIYAMA, Qiu-Mei)
舟山 知夫 (FUNAYAMA, Tomoo)