

平成 30 年 6 月 15 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：15K11922

研究課題名(和文)月・火星の模擬環境となる国際宇宙ステーション曝露部実験に向けた線虫ライフ実験

研究課題名(英文)C. elegans life science program for moon and mars simulation at the external exposure unit of the international space station

研究代表者

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(定常)

研究者番号：30311377

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：月・火星有人探査を実現するためには、それらの特殊環境(特に放射線)を知ること、及びそれらの特殊環境が生体に与える影響を調べる事が重要である。本研究では、国際宇宙ステーションでの月・火星・惑星間空間模擬実験を実現するための様々な基礎研究を実施した。具体的には、粒子・重イオン輸送計算コードPHITSを用いた宇宙放射線環境の推定、モデル生物線虫を用いた生体指標の重粒子線照射、高酸素と放射線の複合曝露の影響について研究を実施した。その結果、月・火星・地球磁気圏内外での線量と線質の大きな違い、体細胞のオートファジーと高感度遊泳指標を見出すとともに、複合曝露による寿命延長という興味深い結果を得た。

研究成果の概要(英文)：To implement long-term manned space mission including future lunar and Martian missions, it is important to understand their radiation environments and biological effects of them. Here, we tried basic investigations for the simulations of lunar and Martian surfaces and interplanetary space environments at the external exposure unit of the international space station (ISS). The first study is the estimation of cosmic-ray doses using Particle and Heavy Ion Transport code System (PHITS). PHITS revealed the quantitative and qualitative differences between their environments. The Japan module Kibo of ISS allows us to measure locomotion of *C. elegans*. Secondly, we demonstrated a new end point of locomotion and possible involvement of autophagy on effects of heavy ion exposure in *C. elegans*. Lastly, we studied the combined effects of radiation and hyperoxia in *C. elegans*, and surprisingly, the combined treatment resulted in lifespan extension.

研究分野：宇宙生命科学

キーワード：国際宇宙ステーション 宇宙線 放射線生物学 線虫

1. 研究開始当初の背景

これまでの ISS (国際宇宙ステーション) 宇宙実験では、宇宙放射線は ISS 船内環境を想定し、重力は微小重力と 1G (地上) を想定してきた。そのため、ISS 船外曝露部に加えて、重力環境と磁場の防護効果が異なる月、火星、及び惑星間空間の特殊環境 (放射線 + 重力) が生体に与える影響は、未だ不明な点が多い。放射線に関しては、月、火星、及び惑星間空間で ~ 数百 mSv/年であるが、惑星・衛星の磁場や大気の影響により放射線の種類等 (線質) が異なる可能性がある。また、線質の違いは生体影響の差に繋がる可能性がある。よって、月長期滞在・火星有人探査を実現するためには、想定する宇宙環境 (月、火星、惑星間空間) の放射線環境の特徴 (線量、線質) を把握するとともに、注目する生体指標の線質依存性を明らかにすることが重要である。

2. 研究の目的

本研究ではモデル生物線虫を用いて、ISS の月・火星・惑星間空間模擬実験を実現するための様々な基礎研究を実施する。具体的には、宇宙放射線環境の推定、各種生体指標の線質依存性の評価、宇宙実験を目指した実験器材の開発を行うことを目的とする。については、DNA 損傷、酸化ストレス応答を中心として実施し、惑星間飛行において重要な宇宙飛行士の船外活動時の酸素と放射線の複合曝露の影響についても調べる。

3. 研究の方法

(1) 宇宙放射線環境の推定

宇宙放射線環境の推定: 粒子・重イオン輸送計算コード PHITS を用いて、地球・月・火星表面及び地球磁気圏内外にある宇宙機内の宇宙線環境を模擬し、その被ばく線量を推定する。

(2) 各種生体指標の線質依存性の評価

DNA 損傷応答

細胞死についてアクリジンオレンジによる染色系と、オートファジーについて *lgg-1* 遺伝子配列と緑色蛍光タンパク質 (GFP) の融合配列を導入した線虫を用いて、放射線に対する影響を解析する。

高濃度酸素曝露と放射線 (ガンマ線) 照射の複合影響

高濃度酸素曝露と放射線 (^{60}Co 線) 照射とを同じ系にて実験可能なシステムを構築し、構築したシステムを用いて複合影響に関して線虫の寿命の観点で評価する。また、変異体等を用いることにより寿命応答に関連する遺伝的背景について調べる。

(3) 宇宙実験を目指した実験器材の開発

船外曝露設備用実験器材の開発及び地上での模擬放射線照射実験を実施する。

4. 研究成果

(1) 宇宙放射線環境の推定

PHITS を用いた推定線量計算の結果、地球表面と比較して、月面及び火星表面の被ばく線量は太陽活動極大期でそれぞれ 368 倍及び 240 倍、太陽活動極小期ではその差はさらに大きくなりそれぞれ 1006 倍及び 539 倍にもなることが分かった (図1参照)。また、被ばく線量に寄与する放射線の種類も環境によって異なり、地球表面はミュオン、宇宙機内及び火星表面では陽子、月表面では重イオンによる被ばく線量が最も大きくなることが分かった (図2参照)。

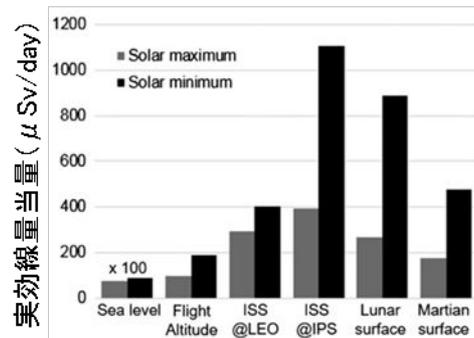


図1 太陽活動極大期 (Solar maximum) 及び極小期 (Solar minimum) における各種宇宙環境での宇宙放射線線量率。Sea level (地球表面)、Flight altitude (地球高度 12km)、ISS@LEO (低衛星軌道上の宇宙機内)、ISS@IPS (惑星間空間の宇宙機内)、Lunar surface (月表面)、Martian surface (火星表面)。

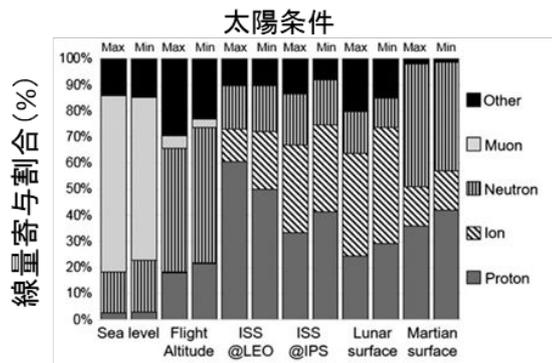


図2 宇宙放射線線量率に寄与する各種放射線の成分寄与割合。Max (太陽活動極大期)、Min (太陽活動極小期)、Sea level (地球表面)、Flight altitude (地球高度 12km)、ISS@LEO (低衛星軌道上の宇宙機内)、ISS@IPS (惑星間空間の宇宙機内)、Lunar surface (月表面)、Martian surface (火星表面)。

(2) 各種生体指標の線質依存性の評価

線虫の体細胞では放射線に反応して細胞死と、細胞の自食作用であるオートファジーが誘導されることを見出した (図3参照)。この生物学的意義を明らかにするため、線虫の全身運動に着目して、放射線照射後の筋肉回復の指標として遊泳運動に与える影響を解析した。その結果、

細胞の自食作用が放射線照射後の線虫の運動回復に貢献している可能性が高いこと、またこの運動回復が酸化ストレス損傷に対する応答と共通点があることが分かった。これらの成果を国際学会にて発表し、また国内の複数の学会で優秀発表賞を受賞した。

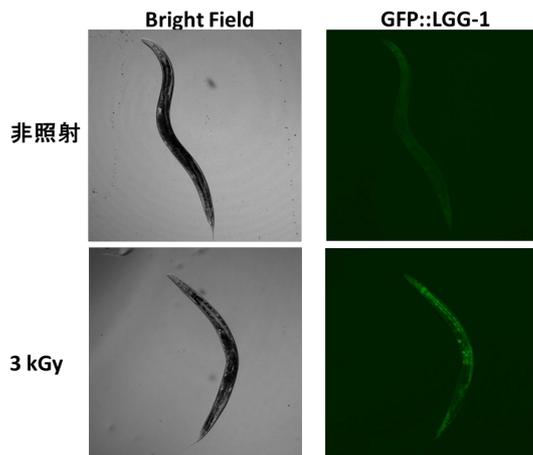


図3 線虫の体細胞における放射線照射後のオートファジーの誘導。遺伝子組換え線虫を用いて、非照射(0 Gy)と照射(3 kGy)の GFP 融合タンパク質の発現によりオートファジー誘導を観察した。

高濃度酸素曝露と放射線(ガンマ線)照射の複合影響

線虫の寿命への影響を調べた結果、一時的な高濃度酸素曝露のみでは野生株の寿命に影響しないが、同時に放射線照射することによって寿命延長が観察された(表 1 参照)。寿命延長の要因を究明するため、抗酸化系およびエネルギー代謝の制御に関与する遺伝子発現を標的として解析を進めた結果、ガンマ線照射によって *sod* 遺伝子群などの抗酸化系および *sco-1* や *sir-2.1* 遺伝子といったエネルギー代謝に関わる遺伝子のいずれも処理直後に著明な発現量低下を示した。しかしながら、ガンマ線と高濃度酸素の複合影響では処理から約 10 日後には *sod* 遺伝子の一部と *sir-2.1* 遺伝子の発現量回復が見られた。これらのことは、ガンマ線照射は一時的に蛋白合成など細胞の活動を抑制するが、高濃度酸素との複合影響で抗酸化系の回復およびサーチュインによるエピジェネティックな効果が寿命延長に寄与することを示す。

表1 複合曝露による寿命への影響

| 線虫の種類 (条件) | 平均寿命 (days ± S.D.) | 最大寿命 (days ± S.D.) |
|-----------------------------|-----------------------|-----------------------|
| N2 (21% O ₂) | 26.3 ± 7.0 | 42.0 ± 4.2 |
| N2 (95% O ₂) | 25.3 ± 7.4 | 41.0 ± 2.8* |
| N2 (21% O ₂ + γ) | 26.9 ± 7.8* | 47.0 ± 3.5 |
| N2 (21% O ₂ + γ) | 30.6 ± 7.8* | 51.0 ± 2.0* |

*P < 0.001, **P < 0.005, ***P < 0.05

(3) 宇宙実験を目指した実験器材の開発

市販物品を用いた観察システムのコンセプトモデルを作成し、国内学会にて発表したが、JAXA にて ISS 搭載可能な観察システムが最近開発されたことが分かったため、本項目は中止とした。当初の予定を変更し、JAXA のシステムで解析可能な遊泳指標に与える重粒子線(炭素線)の影響を、新たに調べる事を試みた。遊泳指標に関する画像解析の結果、従来の運動に関わる有意検出線量である数百 Gy と比較して 2 桁以上低い線量から影響を検出できる指標が存在する可能性を見出した(図4参照)。

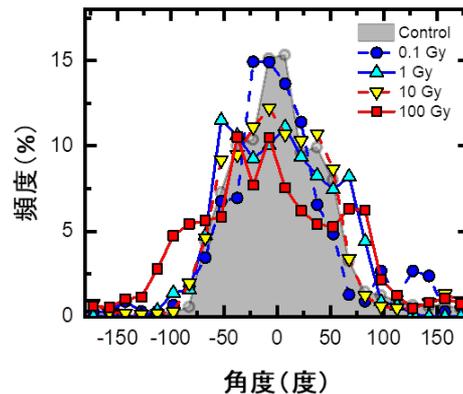


図4 線虫の遊泳指標(角度)に与える炭素線の影響。

5. 主な発表論文等

(雑誌論文)(計 8 件)

T. Sato, A. Nagamatsu, H. Ueno, R. Kataoka, S. Miyake, K. Takeda, K. Niita, Comparison of Cosmic-Ray Environments on Earth, Moon, Mars and in Spacecraft Using PHITS, Radiat. Prot. Dosim., 2017, doi: 10.1093/rpd/ncx192 査読有

S. Yanase, H. Suda, K. Yasuda, N. 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, 2017, 22(12), 1004-1010, doi: 10.1111/gtc.12540 査読有

M. Suzuki, Y. Hattori, T. Sakashita, Y. Yokota, Y. Kobayashi, T. Funayama, Region-specific irradiation system with heavy-ion microbeam for active individuals of *Caenorhabditis elegans*, J Radiat Res. 2017, 58, 881-886. doi: 10.1093/jrr/rrx043 査読有

S. Yanase, M. Suzuki, T. Sakashita, Effects of hyperoxia and ⁶⁰Co gamma-ray irradiation on lifespan in the nematode *C. elegans*, QST Takasaki Annual Report 2016, 2017, 110 査読無

Y. Kato, M. Miyaji, Q.-M. Zhang Akiyama, FUDR extends the lifespan of the short-lived AP endonuclease mutant in *Caenorhabditis elegans* in a fertility-dependent manner, *Genes & Genetic Systems*, 91, 2016, 1-7, doi: 10.1266/ggs.15-00064 査読有

T. Moriwaki, Y. Kato, C. Nakamura, S. Ishikawa, Q.-M. Zhang-Akiyama, A novel DNA damage response mediated by DNA mismatch repair in *Caenorhabditis elegans*: induction of programmed autophagic cell death in non-dividing cells. *Genes Cancer*. 2015, 6, 341-355. doi: 10.18632/genesandcancer.70 査読有

(学会発表)(計 22 件)

T. Sato, A. Nagamatsu, H. Ueno, R. Kataoka, S. Miyake, K. Takeda, K. Niita, Comparison of Cosmic-Ray Environments on Earth, Moon, Mars and in Spacecraft Using PHITS, Neutron and Ion Dosimetry Symposium, NEUDOS13, 14-19 May, 2017, Krakow, Poland

S. Yanase, N. Ishii, Epistatic regulation of DAF-16 via p38 MAPK signaling in molecular compensation of sod-genes and lifespan, 21st International *C. elegans* Conference, 2017 年 6 月 21-25 日, UCLA (L.A., CA, USA)

A. Yamasaki, M. Suzuki, T. Funayama, Y. Kobayashi, Q.-M. Zhang-Akiyama, Effects of Region-Specific Irradiation on Locomotion and Autophagy in *C. elegans*, 21st International *C. elegans* Conference, 2017 年 6 月 21-25 日, University of California, Los Angeles, America

坂下哲哉, 山崎晃, 鈴木芳代, 小野田忍, 佐藤達彦, 築瀬澄乃, 秋山張秋梅, 線虫の遊泳指標に与える放射線の影響, QST 高崎サイエンスフェスタ2017, 2017 年 12 月 12-13 日, 高崎シティギャラリー(群馬県高崎市)

山崎晃, 鈴木芳代, 舟山知夫, 小林泰彦, 秋山(張)秋梅, 放射線照射が線虫の全身運動に及ぼす影響の組織特異性とオートファジーの関与, 日本放射線影響学会 第 60 回大会, 2017 年 10 月 25 ~ 28 日, 京葉銀行文化プラザ(千葉県千葉市)

坂下哲哉, 永松愛子, 横田裕一郎, 舟山知夫, 倉島俊, 量研高崎研における陽子、重粒子線照射の CR-39 を用いた基礎的検討, 日本宇宙生物科学会第 31 回大会, 2017 年 9 月 20 ~ 22 日, 群馬会館(群馬県前橋市)

山崎晃, 鈴木芳代, 舟山知夫, 小林泰彦, 秋山(張)秋梅, 線虫を用いた放射線による全身運動の変化の解析, 日本宇宙生物科学会第 31 回大会, 2017 年 9 月 20 ~ 22 日, 群馬会館(群

馬県前橋市)

山崎晃, 鈴木芳代, 舟山知夫, 小林泰彦, 秋山(張)秋梅, 線虫の放射線応答の部位特異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 年 1 月 26 日, 高崎量子応用科学研究所(群馬県高崎市)

(図書)(計 0 件)

(産業財産権)

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

(その他)

6. 研究組織

(1)研究代表者

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

(2)研究分担者

秋山 秋梅(張秋梅)(ZHANG-AKIYAMA, Qiu-mei)

京都大学・理学研究科・准教授

研究者番号: 00260604

(3)研究分担者

佐藤 達彦(SATO, Tatsuhiko)

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構・原子力科学研究部門・原子力基礎工

学研究センター・研究主幹

研究者番号: 30354707

(4)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