

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K12334

研究課題名(和文)放射線が細胞競合に及ぼす影響をラット乳腺培養系で評価する

研究課題名(英文)Evaluating the effects of radiation on cell competition in a rat mammary culture system

研究代表者

西村 由希子(NISHIMURA, YUKIKO)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学研究所 放射線影響予防研究部・技術員

研究者番号：70837822

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：乳腺は放射線感受性が高い組織であるが、低線量率被ばくの疫学データの精度は高くなく、そのリスクやメカニズム解明は放射線健康影響に関する重要な課題である。低線量率被ばくのがんリスクの評価は、放射線を照射された細胞が非常に少数でも、照射されなかった細胞集団中で生存してがん化に關与することを前提としている。本研究でマイクロビームを用いて低線量率における細胞集団へのまばらな照射を再現し、照射を受けた細胞を追跡して観察する技術を確立したことで、その前提はラット乳腺細胞においては支持されることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で確立した、マイクロビームを用いて低線量率被ばくを模擬し、照射を受けた細胞を追跡して観察する技術は、低線量率被ばくの後生体内で起こる細胞競合を捉えるために有用な研究手法である。この技術によって得られた実験結果は、これまでの放射線被ばく健康リスク評価の前提が支持されることを示しており、社会で現在用いられている放射線規制の仕組みが科学的に合理的であることを最新技術によって確認したという意義がある。

研究成果の概要(英文)：Although the mammary gland is a radiosensitive tissue, epidemiological data from low-dose-rate exposure are not highly accurate, and elucidating the risk of low-dose-rate exposure and its underlying mechanisms is an important issue regarding radiation health effects. Estimation of cancer risk from low-dose-rate radiation assumes that even if very few cells are exposed to radiation, they will survive in the major population of unexposed cells and contribute to cancer development. This study established a series of techniques for use of microbeams to simulate sparse irradiation of a few cells in a cell population in low-dose-rate exposure and for continuous observation of irradiated cells therein, revealing that the above-mentioned assumption holds regarding the rat mammary gland cells.

研究分野：実験病理技術

キーワード：細胞競合 マイクロビーム 低線量放射線

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

放射線が誘発する健康への影響は、社会的にもそのメカニズムの解明が求められる重要な課題である。東京電力福島第一原子力発電所の事故以降、低線量被ばくが体に及ぼす影響が調査されてきたが、低線量被ばくの発がんリスクについての疫学データは少なく、高線量率との違いを評価するには不足している。放射線のエネルギー付与を受ける細胞が全体のごく一部である低線量域での生体影響のメカニズムは、照射野のほとんど全ての細胞が放射線の影響を受ける高線量域とは異なることが予測されている。近年は低線量影響として、照射された細胞だけでなく周囲の細胞にも同様な影響が現れるバイスタンダー効果や、異常な細胞または適応性の低い細胞が正常な細胞集団から排除される細胞競合現象が注目されている。乳腺は放射線感受性の組織であり、ラット乳がんのリスクは低線量率で低くなる。

2. 研究の目的

ラット乳腺の培養実験系を用いて、放射線が細胞競合に及ぼす影響を明らかにするため、以下の2つの問いに答えることを目的とする。

- ① まばらに当たった放射線は細胞競合を起こすのか (放射線が当たった細胞が少数の場合、周囲の健康な細胞との間に細胞競合が働いて、放射線が当たった細胞が排除されるのか)
- ② 放射線は変異細胞と正常細胞の競合に影響するのか (少数の変異遺伝子を持つ細胞が多数の健康な細胞の中にある場合に、多数の細胞が放射線に被ばくされている場合とされていない場合で、細胞競合の働き方は変わるのか)

3. 研究の方法

(1) まばらに当たった放射線による細胞競合

蛍光タンパク質 GFP もしくは DsRed の一方を発現する遺伝子組換えラットから単離した初代乳腺上皮細胞を 1:1000~1:2000 の割合 (GFP:DsRed) で混合し、多数の DsRed 発現細胞と少数の GFP 発現細胞を混合して二次元培養を行った (図1)。マイクロビームを用いて、DsRed 発現細胞集団中の少数の GFP 発現細胞 (図2A) のみに 2Gy を照射する「Spot 照射」(図2B)、あるいは細胞集団中の少数細胞を含めた一定の広さの領域に 2Gy を照射する「Broad 照射」(図2C) によって、まばらなまたは全体的な照射を行った。その後3時間ごとに最長171時間のタイムラプス撮影を行い、それぞれの条件で照射したターゲット細胞を追跡し、細胞の消失 (蛍光の消失によって判定) までの時間を測定した。

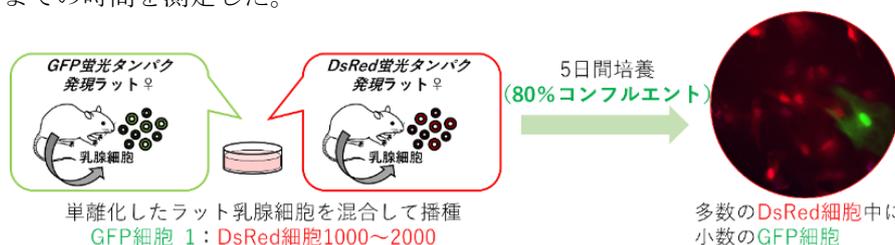


図1 マイクロビームによる細胞競合実験のための混合培養

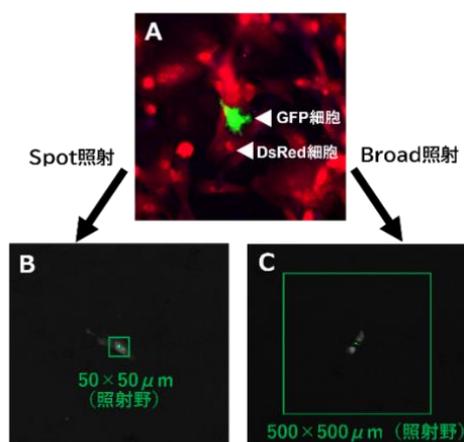


図2 Spot 照射と Broad 照射。

A. 二種類の細胞を混合して培養したディッシュ内では GFP 発現細胞 (照射の標的) が多数の DsRed 発現細胞と隣接した状態にある。B 及び C. 実際のマイクロビーム照射画面。GFP 蛍光シグナルがグレーで表示されている。緑色の点及び枠は、マイクロビーム照射野の中心と範囲を示す。B は Spot 照射、C は Broad 照射。

(2) 変異細胞と正常細胞の競合に対する放射線の影響

Tp53^{-/-}または Tp53^{+/-}の変異を持ち CFP 蛍光タンパク質を発現する遺伝子組換えラットと、正常遺伝子ラットから単離した乳腺細胞を 1:1、10、100 の割合 (変異細胞:正常細胞) で混合し、多数の正常細胞と少数の変異細胞を混合して二次元培養を行った。その後1日に1回、7~10日間の多点撮影を行い、変異細胞の数を解析した (図3)。

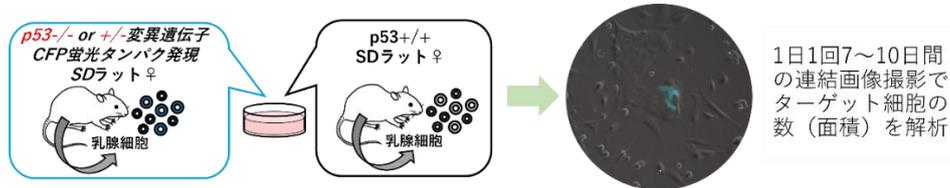


図3 変異細胞と正常細胞の競合実験系

4. 研究成果

(1) まばらに当たった放射線による細胞競合

Spot 照射、Broad 照射、非照射を比較したところ、1 回目の実験結果では Spot 照射された細胞が非照射よりも有意に早く消失したが、消失までの時間には細胞間に大きなばらつきがあった。2 回目の実験では有意な差が見られなかった (図 4)。

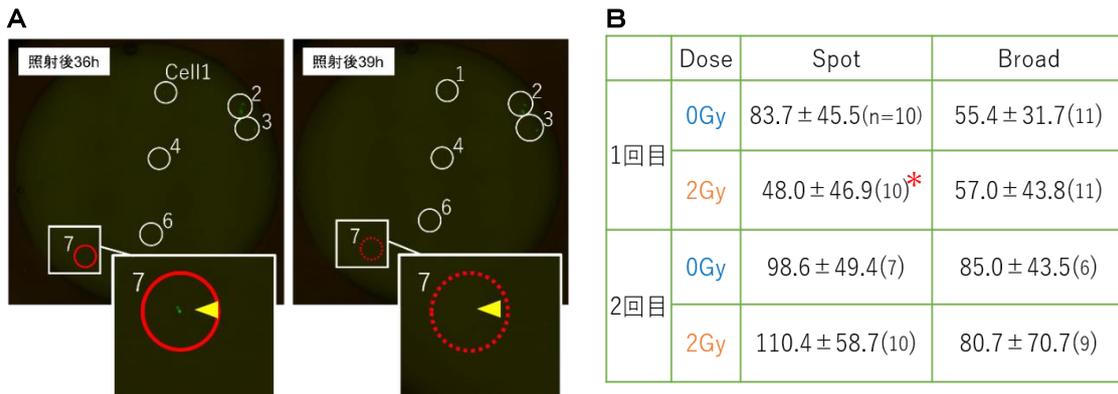


図4 まばらに当たった放射線による細胞競合。A. 照射後のタイムラプス撮影画像。照射後 36 時間では「Cell 7」(赤色の丸囲み)を確認できるが、39 時間では消失している(赤色の破線丸囲み)。B. 細胞が消失するまでの時間。n は追跡した細胞数。* $p < 0.05$ vs. 0Gy (t 検定)

(2) 変異細胞と正常細胞の競合に対する放射線の影響

培養 7~10 日目の細胞の撮影が可能になった。今回の条件では、細胞比率に対する Tp53 変異の顕著な影響は見られなかった (図 5)。

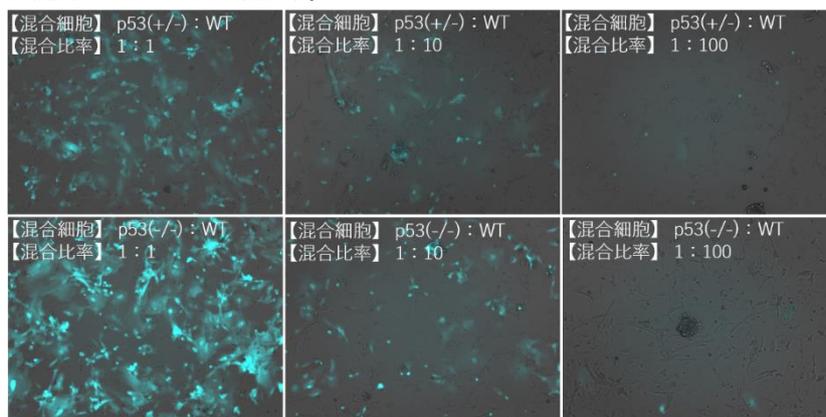


図5 Tp53 変異細胞 (水色) と正常細胞 (無色) の混合培養開始後 7 日目の画像

(3) 考察及びまとめ

ラット乳腺細胞の培養系を用いたマイクロビーム照射実験により、少なくとも本実験の条件で顕著な細胞競合は起こらないことが示された。細胞競合とは何らかの変化を持った細胞が隣り合った正常細胞と適応度を競い合う現象である。これまでマウス造血幹細胞及び腸管幹細胞において、放射線照射を受けた細胞を排除する細胞競合が起こるといった報告があるが、その他の細胞を用いた実験報告はなく、この現象はすべての組織に普遍的ではない可能性がある。本研究で確立した Tp53 変異細胞と正常細胞の混合培養実験系は、CFP 蛍光タンパクにより Tp53 変異細胞が標識されるため、タイムラプス撮影による細胞競合解析実験が可能である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 西村由希子
2. 発表標題 Does sparse radiation exposure affect competition in rat mammary cell culture systems?
3. 学会等名 日本放射線影響学会第66回大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

Photon Factory Activity Report 2021 http://pfwww.kek.jp/acr/2021pdf/u_reports/pf21b0137.pdf Photon Factory Activity Report 2020 http://pfwww.kek.jp/acr/2020pdf/u_reports/pf20b0139.pdf Photon Factory Activity Report http://pfwww.kek.jp/acr/2019pdf/u_reports/pf19b0079.pdf

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	今岡 達彦 (IMAOKA Tatsuhiko) (40356134)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学研究所 放射線影響研究部・グループリーダー (82502)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------