

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：82110

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24620013

研究課題名(和文)宇宙放射線による筋運動の変調に関わる神経メカニズムの解析

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

研究代表者

鈴木 芳代 (Suzuki, Michiyo)

独立行政法人日本原子力研究開発機構・原子力科学研究部門量子ビーム応用研究センター・研究員

研究者番号：10507437

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、放射線による筋運動の変調のメカニズムを明らかにすることを目的とし、モデル生物の線虫を対象として、放射線照射実験とシミュレーションとを組み合わせた実験解析系を構築した。放射線照射実験により、照射による線虫の咽頭筋運動の一時的な停止を見出すと共に、放射線照射によって産生する酸化ストレスがこの応答に関与している可能性を示した。さらに、線虫の解剖学的構造に基づいて作成した咽頭筋細胞ネットワークモデルによるシミュレーションでは、咽頭筋運動のリズムの生成と停止に関与する細胞を絞り込むことに成功した。

研究成果の概要(英文)：To investigate the radiation effects and the involvement of oxidative stress on muscular movements, we focused on the pharyngeal pumping motion in *C. elegans*. We found that the proportion of animals in which the pumping motion had stopped increased immediately after irradiation. In addition, the response of hydrogen peroxide-exposed animals was similar to that of irradiated animals. These results support the possibility that radiation-induced suppression of the pumping motion in *C. elegans* was caused by radiation-produced hydrogen peroxide. Furthermore, we proposed a simulation-based approach to estimate the control mechanisms involved in the pumping motion. To conduct the simulations, we developed a pharyngeal muscle model including 20 muscular cells and 9 marginal cells. Through a series of simulations using the model, we successfully selected a few candidate cells of the rhythm generator, which might relate to the radiation-induced termination of the pumping motion.

研究分野：放射線生物学

キーワード：放射線生体影響情報学

## 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。生体機能のうち、特に筋を駆使した運動機能は、ヒトをはじめとするあらゆる動物にとって危険回避や捕食を担う最も重要な機能の一つである。細胞レベルでは、放射線照射により心筋細胞（特に筋芽細胞）が壊死することや酸化ストレスが心筋細胞死を誘導することが報告されているが、筋運動自体（個体レベル）にどのような影響が生じるかは、全く分かっていない。

そこで、研究代表者らは、行動実験系が確立されてい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粒子線や線の筋運動への影響を調べてきた。ヒトでの心筋に対応する線虫の咽頭筋の運動（ポンピング運動といい、餌の咀嚼・嚥下を担う）を対象として、放射線の影響を調べた結果、照射直後には咽頭筋運動を停止する個体が出現する一方で、停止しなかった場合の咽頭筋運動は正常であること、照射直後に停止した咽頭筋運動は、短時間で照射前のレベルまで回復すること（咽頭筋運動の変調）を突き止めた。本研究では、この予備実験で見出した線虫の「咽頭筋運動の変調」に着目し、放射線の作用メカニズムを解析する。

## 2. 研究の目的

本研究では、放射線による筋運動変調のメカニズムを明らかにすることを目的とし、放射線の影響を細胞レベルのダメージから個体レベルの筋運動の変化まで調べることができるモデル生物の線虫を対象として、放射線照射実験とシミュレーションとを組み合わせた実験解析系を構築する。

## 3. 研究の方法

放射線照射実験とシミュレーションに関する以下の4項目(1. (a), (b), 2. (a), (b))を達成目標とし、線虫の咽頭筋運動に対する放射線影響とそのメカニズムの一端を解明する。

### 研究項目 1. 線虫の咽頭筋運動に対する放射線影響の解析

(a) 線虫の咽頭筋運動に対する放射線影響を明らかにする：放射線による咽頭筋運動の変調を詳しく調べるために、放射線（炭素イオン、<sup>60</sup>Co ガンマ線）照射実験を行う。

(b) 線虫の咽頭筋運動の変調における活性酸素種（酸化ストレス）の関与の有無を明らかにする：咽頭筋運動に対する放射線影響に関わる因子の探索を目的として、酸化ストレス応答実験を行う。

### 研究項目 2. 線虫の咽頭筋モデルを用いたシミュレーションによる筋運動変調メカニ

## △の予測

(a) 線虫の咽頭筋運動時の筋電位を再現し得る実構造ベースの咽頭筋モデルを構築する：線虫の咽頭の解剖学的構造が完全に明らかにされている点を活かし、実構造ベースの咽頭筋モデルを作成して、コンピュータ上で咽頭筋運動時の筋電位を再現する。

(b) 咽頭筋モデルを用いたシミュレーションにより、筋運動変調に関与する細胞を予測する：数理モデル中の各細胞の活動レベルを仮想的に変化させるシミュレーションにより、咽頭筋運動変調に関与する細胞を予測する。

## 4. 研究成果

### 研究項目 1. 線虫の咽頭筋運動に対する放射線影響の解析

放射線（炭素イオン、<sup>60</sup>Co ガンマ線）照射実験の結果、放射線の線質に関わらず、照射直後には咽頭筋運動を停止する個体の割合が照射した線量に依存して増加すること、及びこの咽頭筋運動の停止が照射後2時間以内に完全に回復することを明らかにした。一般に、放射線照射によってOH・やH・といったフリーラジカルが産生されることが知られている。さらに、これらのフリーラジカル同士が反応することで、過酸化水素（H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>）のような活性酸素種(ROS)が生成する。ROSは、老化の重要因子の一つとして知られており、老化の過程で観られる筋運動の低下にも関与しているものと考えられる。そこで、まず、放射線による線虫の咽頭筋運動の一時的な停止における放射線産生ROSの関与を探った。放射線照射によって産生されるROSの一種であるH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>に線虫を曝露したところ、放射線照射直後と類似した応答が観られた。本実験の結果から、放射線照射直後の線虫の咽頭筋運動の停止（抑制）が、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>をはじめとする放射線産生ROSによって誘導される可能性が示唆された。

次に、全身照射後に観られた線虫の咽頭筋運動の一時的な停止が、身体の中のどの部位への影響かを探るために、身体のごくわずかなエリア（咽頭を含む頭部、腸などがある腹部、尾部）を狙った炭素イオンマイクロビーム照射実験を行った。この結果、頭部照射群においてのみ、咽頭筋運動を停止する個体の有意な増加が観られた。このことは、全身照射直後に観られた咽頭筋運動停止個体の増加が、主に頭部（咽頭）への放射線影響を反映したものであることを意味する。

### 研究項目 2. 線虫の咽頭筋モデルを用いたシミュレーションによる筋運動変調メカニ △の予測

1.の放射線照射実験で明らかにした放射線による線虫の咽頭筋運動の一時的な停止に着目し、その素過程である運動生成・制御の基本的メカニズムを明らかにするためのシミュレーション解析系の構築を進めた。

1.のマイクロビーム照射実験により、放射線照射直後の咽頭筋運動の停止が、頭部(咽頭)への放射線影響を反映したものであることが示唆されたことから、咽頭のみ注目して、咽頭筋運動の生成と停止のメカニズムを探ることとした。咽頭筋運動に関しては、筋細胞が運動リズムの生成を行い、ニューロンがそのリズムを制御していることが既に明らかになっている。そこで、咽頭の29個の筋細胞を実構造に基づいてコンピュータ上に再現する咽頭筋細胞ネットワークモデルを作成し、筋細胞ネットワークの運動リズム生成・停止メカニズムを探った。細胞応答シミュレーションにより、提案モデルは、実験的手法による計測が困難な咽頭筋運動時の個々の筋細胞の膜電位をシミュレートできるだけでなく、膜電位の総和である咽頭筋電位の実測値をよく再現することを確認した。このモデルを用いて、個々の咽頭筋細胞の運動リズム生成への関与を予測するシミュレーションを行い、特に重要な筋細胞を2種類にまで絞り込むことに成功した。

さらに、咽頭筋細胞により生成された運動リズム信号を調整・制御する役割を担う神経細胞に着目し、その出力信号を再現するシミュレーションも行い、咽頭筋細胞及び神経細胞内部の情報伝達を予測した。

以上の研究成果をまとめ、雑誌論文や国内外の学会にて発表した。

#### 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 6 件)

1. Yanase S, Luo Y, Maruta H, PAK1-deficiency/ down-regulation reduces litter size, activates HSP16.2 gene and extends lifespan in *C. elegans*, *Drug Discoveries & Therapeutics* 2013; 7:29-35. DOI:10.5582/ddt.2013.v7.1.29 (査読有)
2. Kimura T, Takanami T, Sakashita T, Wada S, Kobayashi Y, Higashitani A, Innate immune genes including a mucin-like gene, *mul-1*, induced by ionizing radiation in *Caenorhabditis elegans*, *Radiat Res* 2012; 178:313-320. DOI:10.1667/RR2989.1 (査読有)
3. Sakashita T, Suzuki M, Hamada N, Shimozawa Y, Shirai-Fukamoto K, Yokota Y, Hamada-Sora S, Kakizaki T, Wada S, Funayama T, Kobayashi Y, Behavioral Resistance of *Caenorhabditis elegans* Against High-LET Radiation Exposure, *Biol Sci Space* 2012; 26:7-11. DOI:10.2187/bss.26.7 (査読有)
4. Hattori Y, Suzuki M, Kobayashi Y, Tsuji T, Modeling of the pharyngeal muscle in

*Caenorhabditis elegans* based on FitzHugh-Nagumo equations, *Artificial Life and Robotics* 2012; 17: 173-179. DOI:10.1007/s10015-012-0064-y

(査読有)

5. Sakashita T, Suzuki M, Hamada N, Shimozawa Y, Shirai-Fukamoto K, Yokota Y, Funayama T, Kobayashi Y, Effects of Low- and High-LET Radiation on the Salt Chemotaxis Learning in *Caenorhabditis elegans*, *Biol Sci Space* 2012; 26:21-25. DOI:10.2187/bss.26.21 (査読有)
6. Suda H, Sato K, Yanase S, Timing mechanism and effective activation energy concerned with aging and lifespan in the long-lived and thermosensory mutants of *Caenorhabditis elegans*, *Mech Ageing Dev* 2012; 133:600-610. DOI:10.1016/j.mad.2012.07.007 (査読有)

[学会発表](計 27 件)

1. Suzuki M, Hattori Y, Sakashita T, Funayama T, Yokota Y, Kobayashi Y, Development of a method of region-specific microbeam irradiation to *C. elegans* and analyses of effects on muscular movements, The 12th International Workshop on Microbeam Probes of Cellular Radiation Response (IWM2015), 2015年5月30日-6月1日, 若狭湾エネルギー研究センター(福井県敦賀市)。
2. Suzuki M, Hattori Y, Sakashita T, Funayama T, Yokota Y, Kobayashi Y, Effects of Region-specific Microbeam Irradiation on Locomotion and Pharyngeal Pumping Motion in *Caenorhabditis Elegans*, 15th International Congress of Radiation Research (ICRR2015), 2015年5月25-29日, 京都国際会館(京都府京都市)。
3. 鈴木芳代, 坂下哲哉, 服部佑哉, 小林泰彦, 線虫の筋運動に対する炭素イオンマイクロビーム局所照射の影響, 第9回高崎量子応用研究シンポジウム, 2014年10月9-10日, 高崎シティギャラリー(群馬県高崎市)。
4. 坂下哲哉, 線虫の行動における生存戦略について 走性に注目して, 日本放射線影響学会第57回大会, 2014年10月1-3日, かごしま県民交流センター(鹿児島県鹿児島市)。
5. 鈴木芳代, 坂下哲哉, 服部佑哉, 小林泰彦, 放射線による線虫の運動抑制における放射線産生 ROS の関与, 日本放射線影響学会第57回大会, 2014年10月1-3日, かごしま県民交流センター(鹿児島県鹿児島市)。

6. Suzuki M, Sakashita T, Hattori Y, Kobayashi Y, Oxidative stress suppresses locomotion and pumping motion in *Caenorhabditis elegans*, 2014 *C. elegans* Development, Cell Biology, and Gene Expression Topic Meeting in association with The 6th Asia-Pacific *C. elegans* Meeting, 2014年7月15-19日, 奈良県新公会堂(奈良県奈良市).
7. Ide K, Ishikawa T, Arai S, Morioka T, Kaneda H, Suzuki M, Sakashita T, Ishii N, Yanase S, Detection and measurement of abnormal posture under stressful conditions in nematode *C. elegans*, *C. elegans* Topic Meeting: Aging, Metabolism, Stress, Pathogenesis, and Small RNAs 2014, 2014年7月12日, ウィスコンシン大学(アメリカ・ウィスコンシン州マディソン市).
8. Suzuki M, Sakashita T, Hattori Y, Kobayashi Y, Radiation Effects on Rhythmic Movements in *Caenorhabditis Elegans*, 6th International Systems Radiation Biology Workshop, 2014年3月6日, 放射線医学総合研究所(千葉県千葉市).
9. 鈴木芳代, 服部佑哉, 坂下哲哉, 舟山知夫, 横田裕一郎, 池田裕子, 小林泰彦, マイクロビームを用いた個体レベル放射線影響の解析 放射線影響の照射部位依存性に迫る, 第4回国際放射線神経生物学学会大会, 2014年1月17日, 高崎シティギャラリー(群馬県高崎市).
10. 鈴木芳代, 服部佑哉, 坂下哲哉, 舟山知夫, 横田裕一郎, 池田裕子, 小林泰彦, 線虫の筋運動に対する重イオンマイクロビーム局部照射の影響, 日本放射線影響学会第56回大会, 2013年10月18-20日, ホテルクラウンパレス(青森県青森市).
11. 鈴木芳代, 服部佑哉, 坂下哲哉, 舟山知夫, 横田裕一郎, 池田裕子, 小林泰彦, 線虫の咽頭ポンピング運動に対する放射線影響の照射部位依存性, 第8回高崎量子応用研究シンポジウム, 2013年10月10-11日, 高崎シティギャラリー(群馬県高崎市).
12. Suzuki M, Hattori Y, Sakashita T, Funayama T, Yokota Y, Ikeda H, Kobayashi Y, Effects of Carbon-ion microbeam irradiation on locomotion and pharyngeal pumping in *C. elegans*, 11th Microbeam Workshop -Microbeam Probes of Cellular Radiation Response, 2013年10月3-4日, Hotel Bordeaux Mercure Chateau Chartrons(フランス・ジロンド県ボルドー市).
13. Hattori Y, Suzuki M, Tsuji T, Kobayashi Y, Cell-level modeling and simulation of the pharyngeal pumping in *Caenorhabditis elegans*, 19th International *C. elegans* Meeting, 2013年6月26-30日, カルフォルニア大学ロサンゼルス校(アメリカ・カルフォルニア州ロサンゼルス市).
14. Yanase S, Shoyama T, Suda H, Ishii N, Intermittent hyperoxia-induced hormesis decreases aerobic respiration via ins/IGF-1 and p53/CEP-1 signalings in *C. elegans*, 19th International *C. elegans* Meeting, 2013年6月26-30日, カルフォルニア大学ロサンゼルス校(アメリカ・カルフォルニア州ロサンゼルス市).
15. Suzuki M, Sakashita T, Tsuji T, Hattori Y, Kobayashi Y, Quantitative analysis of ionizing radiation-induced effects on locomotion in *Caenorhabditis elegans*, 19th International *C. elegans* Meeting, 2013年6月26-30日, カルフォルニア大学ロサンゼルス校(アメリカ・カルフォルニア州ロサンゼルス市).
16. 鈴木芳代, 服部佑哉, 坂下哲哉, 舟山知夫, 横田裕一郎, 武藤泰子, 池田裕子, 小林泰彦, 線虫の全身運動及び咽頭ポンピング運動に対する放射線影響の照射部位依存性, 第3回国際放射線神経生物学学会大会, 2013年1月25-26日, 万国津梁館(沖縄県名護市).
17. Hattori Y, Suzuki M, Kobayashi Y, Tsuji T, Neuronal signal simulation of the pharyngeal pumping motion in *Caenorhabditis elegans*, Foundations of Systems Biology in Engineering (FOSBE) 2012, 2012年10月21-25日, 慶応大学鶴岡キャンパス(山形県鶴岡市).
18. Suzuki M, Sakashita T, Tsuji T, Kobayashi Y, Computational study of neurotransmission in chemotaxis of *Caenorhabditis elegans*, Foundations of Systems Biology in Engineering (FOSBE) 2012, 2012年10月21-25日, 慶応大学鶴岡キャンパス(山形県鶴岡市).
19. 鈴木芳代, 服部佑哉, 坂下哲哉, 舟山知夫, 横田裕一郎, 武藤泰子, 池田裕子, 小林泰彦, 線虫の全身運動に対する重イオンマイクロビーム局部照射の影響, 第7回高崎量子応用研究シンポジウム, 2012年10月11-12日, 高崎シティギャラリー(群馬県高崎市).
20. 坂下哲哉, 鈴木芳代, 浜田信行, 下澤容子, 白井花菜, 横田裕一郎, 浜田桜, 柿崎竹彦, 和田成一, 舟山知夫, 小林泰彦, 線虫の行動に観られる高 LET 放射線耐性, 第26回日本宇宙生物科学学会学術集会, 2012年9月27-29日, 阿波観光ホテル(徳島県徳島市).
21. Yazaki K, Yoshikoshi C, Oshiro S, Takahashi J, Yanase S, Supplemental cellular protection by a marine carotenoid extends lifespan via ins/IGF-1 signaling in nematode *C.*

*elegans*, BIT 's 1st Annual International Congress of Marine Algae-2012, 2012 年 9 月 22 日, Dalian World Expo Center, (中国・遼寧省大連市).

22. 服部佑哉, 鈴木芳代, 辻敏夫, 小林泰彦, 線虫の咽頭筋のモデル化: 放射線影響解明のための計算論的アプローチ, 日本放射線影響学会第 55 回大会 2012 年 9 月 6-8 日, 東北大学川内北キャンパス(宮城県仙台市).
23. 鈴木芳代, 服部佑哉, 坂下哲哉, 舟山知夫, 横田裕一郎, 武藤泰子, 池田裕子, 小林泰彦, 線虫の筋運動に対する放射線影響の照射部位依存性, 日本放射線影響学会第 55 回大会, 2012 年 9 月 6-8 日, 東北大学川内北キャンパス(宮城県仙台市).
24. 服部佑哉, 鈴木芳代, 曾智, 辻敏夫, 小林泰彦, 線虫の咽頭筋細胞の数理モデリングと細胞活動シミュレーション, 2012 年度包括脳ネットワーク夏のワークショップ, 2012 年 7 月 26 日, 仙台国際センター(宮城県仙台市).
25. Hattori Y, Suzuki M, Soh Z, Kobayashi Y, Tsuji T, Simulation of cell activities in pharyngeal pumping in *Caenorhabditis elegans*, EMBO Conference Series: *C. elegans* Neurobiology, 2012 年 6 月 14-17 日, EMBL Advanced Training Centre (ドイツ・バーデン=ヴュルテンベルク州ハイデルベルク市).
26. Suzuki M, Sakashita T, Kobayashi Y, Tsuji T, Computational inferences on neurotransmission in chemotaxis learning in *Caenorhabditis elegans*, EMBO Conference Series: *C. elegans* Neurobiology, 2012 年 6 月 14-17 日, EMBL Advanced Training Centre (ドイツ・バーデン=ヴュルテンベルク州ハイデルベルク市).
27. 鈴木芳代, 線虫の実構造に基づくモデルによる神経・筋応答シミュレーション, 新学術領域「システム分子行動学」数理シンポジウム, 2012 年 5 月 12 日, 東京大学本郷キャンパス(東京都文京区).

[図書](計 1 件)

1. Yanase S, Maruta H, PAK1 controls the lifespan, In: PAKs, RAC/CDC42(p21)-activated kinases: Towards the cure of cancer and other PAK-dependent diseases, pp. 125-135, Maruta H (Ed), Elsevier, 2013.  
ASIN: B00BCXPYM8

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

鈴木 芳代 (SUZUKI MICHIO)

独立行政法人日本原子力研究開発機構・原子力科学研究部門・量子ビーム応用研究センター・研究員

研究者番号: 10507437

### (2) 研究分担者

坂下 哲哉 (SAKASHITA TETSUYA)

独立行政法人日本原子力研究開発機構・原子力科学研究部門・量子ビーム応用研究センター・研究主幹

研究者番号: 30311377

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

辻 敏夫 (TSUJI TOSHIO)

広島大学大学院工学研究院・教授

研究者番号: 90179995