



基研研究会

「放射線の生体影響解明への分野横断による挑戦」

2019年5月23日～25日

低線量率放射線生物影響における 酸化ストレス・ミトコンドリア応答の 役割

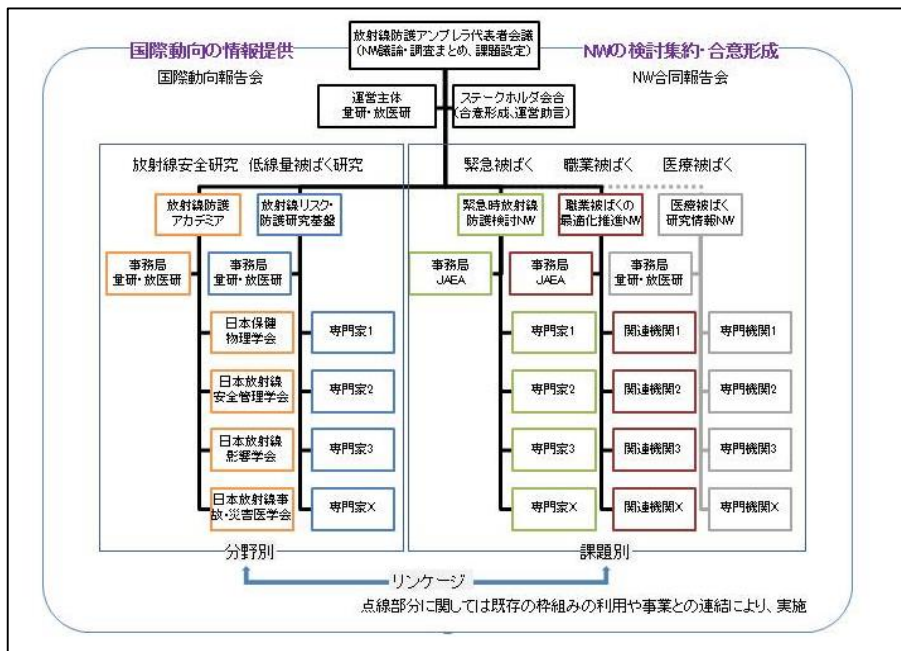
京都大学大学院生命科学研究科

附属放射線生物研究センター

小林純也

国内における放射線科学・防護研究ネットワーク

原子力規制庁アンブレラ事業による放射線防護・規制に関するネットワーク



PLANET(放射線リスク・防護研究基盤運営委員会:量研・放医研設置)

委員

氏名	ふりがな	所属
甲斐 倫明	かい みちあき	大分県立看護科学大学
酒井 一夫	さかい かずお	東京医療保健大学
小笹 晃太郎	おざさ こうたろう	公益財団法人放射線影響研究所・疫学部
鈴木 啓司	すずき けいじ	長崎大学大学院 原爆後障害医療研究所
田内 広	たうち ひろし	茨城大学 理学部
保田 浩志	やすだ ひろし	広島大学 原爆放射線医学研究所 放射線影響評価研究部門 線量測定・評価研究分野
小林 純也	こばやし じゅんや	京都大学 放射線生物研究センター
杉原 崇	すぎはら たかし	環境科学技術研究所 生物影響研究部 分子生物学グループ
岩崎 利泰	いわさき としやす	電力中央研究所 放射線安全研究センター
今岡 達彦	いまおか たつひこ	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所 放射線影響研究部 幹細胞発がん研究チーム

低線量放射線影響交流会

量研・放医研

環境科学技術研究所

電力中央研究所

放射線関連大学研究者等

トリチウム研究グループat核融合研

放射線影響学会Q&A活動(福島県内中心)

低線量リスク委員会主催ワークショップ(6月21日)

ワークショップ「低線量リスクに関するコンセンサスと課題の明確化」

○日時：2019年6月21日(金) 13:30-17:00

○場所：東京大学工学部2号館 213 講義室

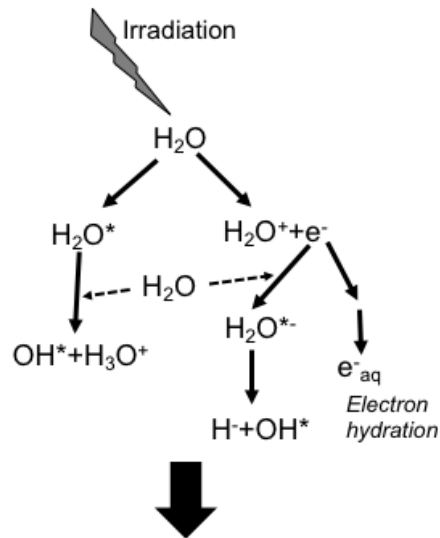
○主催：低線量リスク委員会(日本保健物理学会と日本放射線影響学会合同委員会)

○主旨：低線量(率)放射線被ばく健康影響の推定に関する取組みの多くは、LNTモデルをベースにしたリスク予測計算か、DNA損傷・修復とがんを定性的に結びつける放射線生物学的な議論に偏ることが見受けられます。それゆえ、低線量リスクの科学的理解と社会的理解が進んでいない現状があります。そこで日本保健物理学会と日本放射線影響学会は合同の委員会「低線量リスク委員会」を設立し、低線量リスク推定の現状と課題をコンパクトに整理し、放射線防護の基礎にある科学的理解と社会的理解を加速するためのバランスある共通認識の構築を目指して議論を深めてきました。

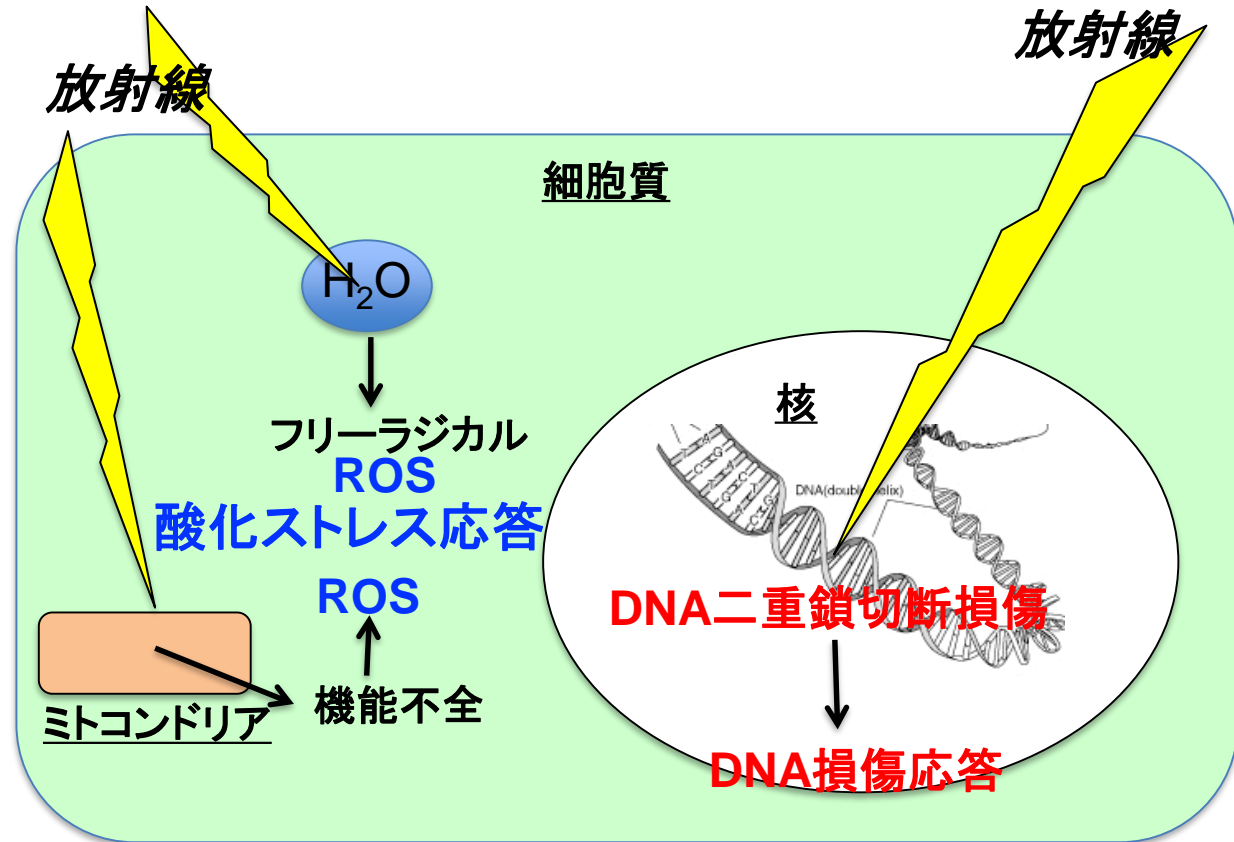
○プログラム(案)

13:30-13:35	開会挨拶	座長：甲斐 倫明(大分看護科学大)
(以下発表15分、質疑5分を予定)		
13:35-13:55	低線量・低線量率とは	富田 雅典(電中研)
13:55-14:15	DNA・細胞レベルで起きること	小林 純也(京都大)
14:15-14:35	組織の変化	酒井 一夫(東京医療保健大)
14:35-14:55	発がんメカニズムに関する知見	今岡 達彦(量研機構放医研)
14:55-15:15	放射線によるがん化	児玉 靖司(大阪府立大)
休憩 20分(予定)		
15:35-15:55	放射線の疫学	小笹 晃太郎(放射線影響研究所)
15:35-16:15	放射線がんリスクの評価	佐々木 道也(電中研)
16:15-16:35	継世代影響	吉永 信治(広島大)
16:35-16:55	低線量リスクに関する放射線防護の考え方	高原 省五(原子力機構)
16:55-17:00	今後の予定	佐々木 道也(電中研)

放射線によるDNA損傷と酸化ストレスの発生

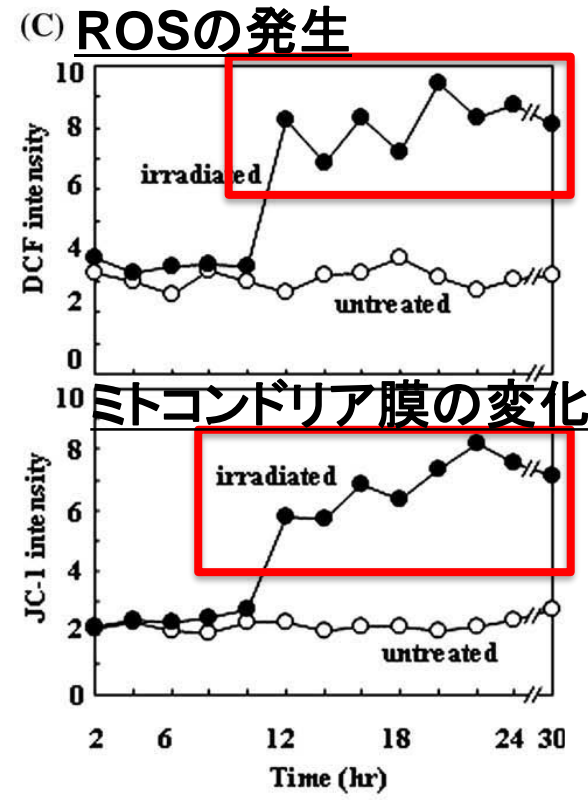
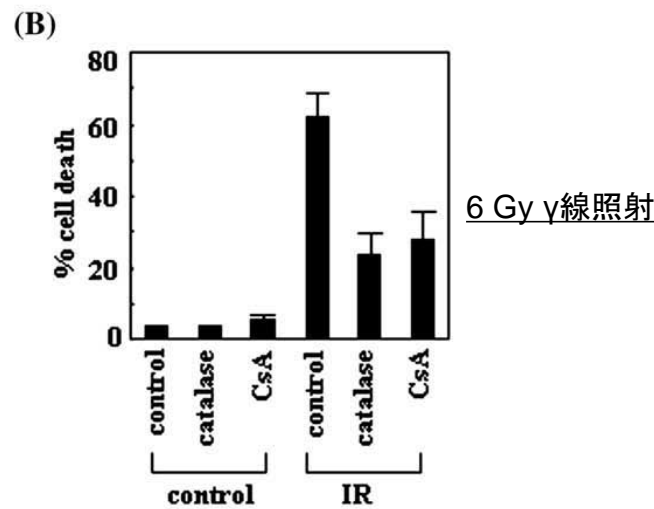
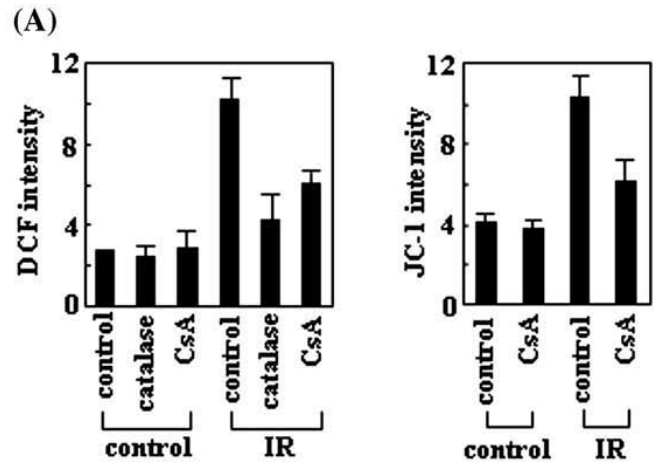
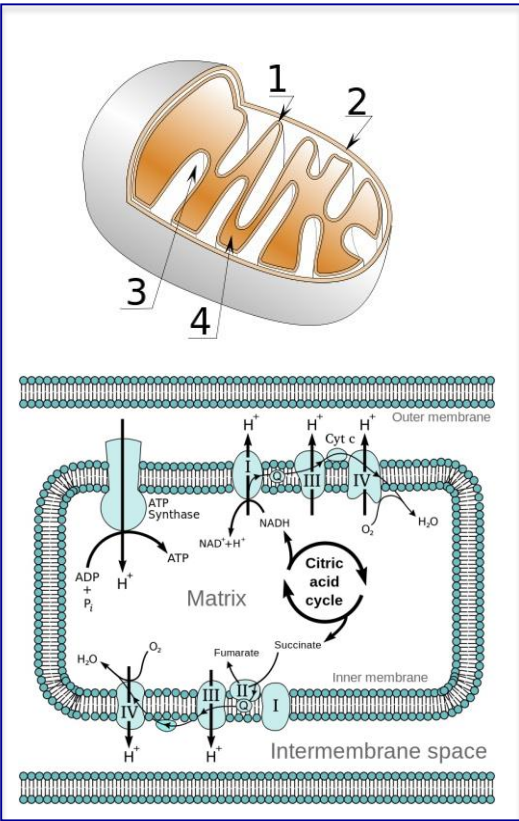


Secondary reaction of free radicals and electron
ROS products: O_2^* , H_2O_2 , H^+ , OH^* , etc



電離放射線はDNA損傷を誘発しDNA損傷応答を活性化するとともに、細胞内ROSを誘発・蓄積を誘導し、酸化ストレス応答も活性化する。ROSの供給源としては間接効果による水分子からのフリーラジカル形成、ミトコンドリアからの漏えいが考えられる。

高線量放射線による活性酸素種(ROS)の発生

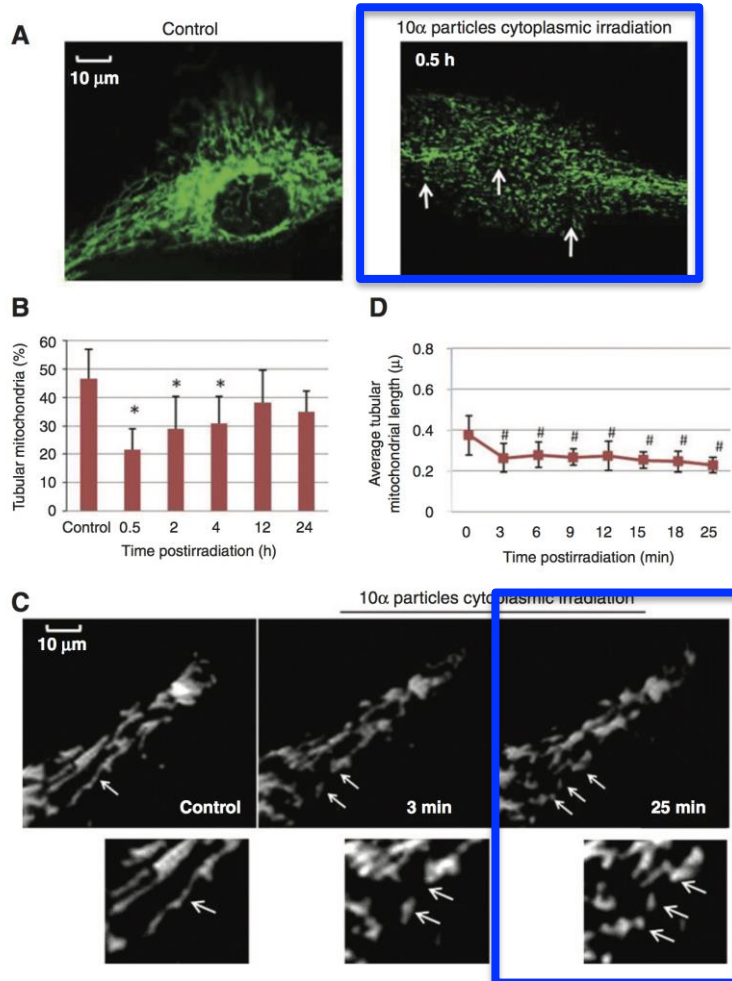


Kim et al, Cell Signalling, 2008

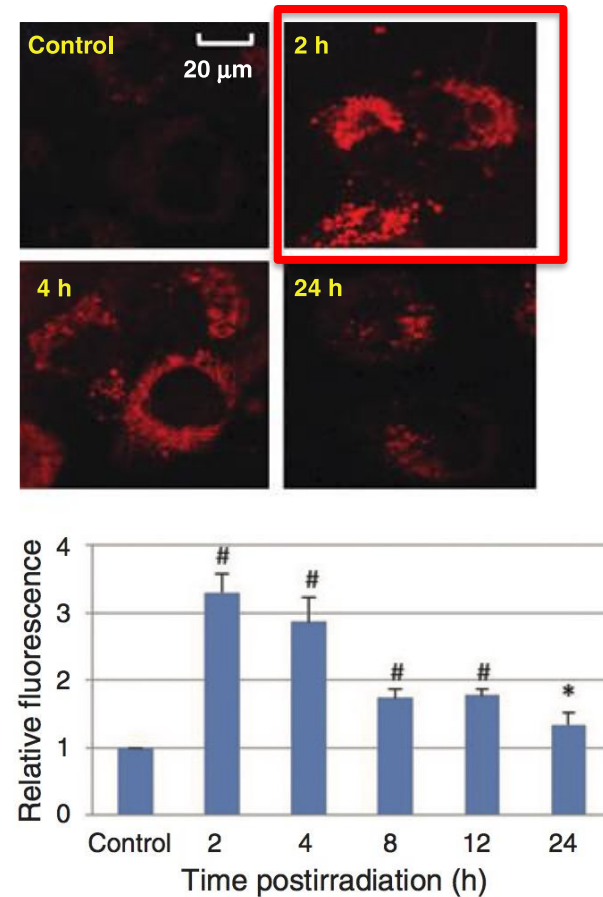
電離放射線はミトコンドリア膜変化とROS増加のタイムコースは一致する。

α線細胞質照射によるミトコンドリアROSの発生

ミトコンドリアの断片化



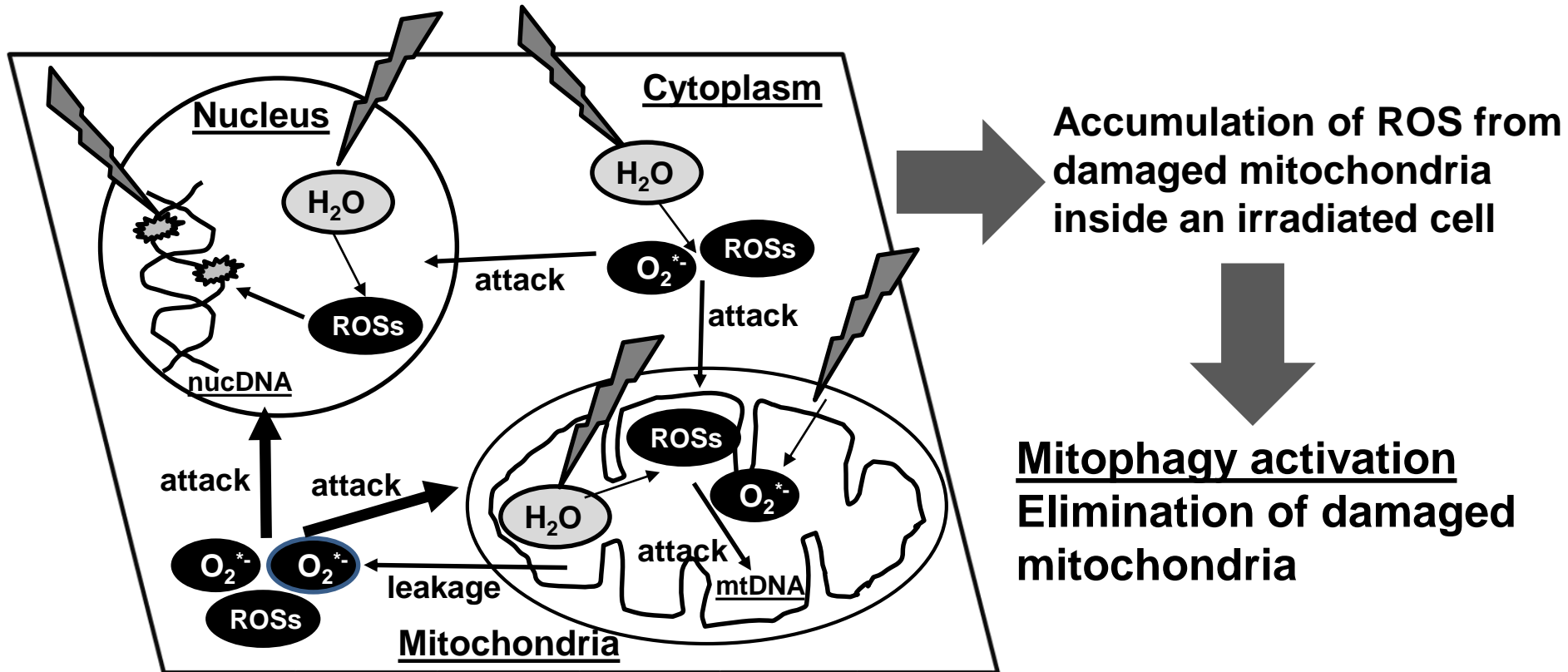
ミトコンドリアROSの蓄積



Zhang et al, Cancer Res, 2013

α線の細胞質照射はミトコンドリアの分裂(断片化?)、ミトコンドリア性ROS蓄積を誘発する(一過性?)。

放射線によるミトコンドリア障害とROSの発生



放射線(高線量急照射?)で直接的、間接的に障害されたミトコンドリアからはROSが漏れ出させ、障害ミトコンドリアの蓄積・ROSの過度な蓄積、さらには核内のDNAに損傷を誘発しうる(発がんの要因か?)。そのため、障害されたミトコンドリアはミトファジー(オートファジーの一種)で除去され、ROSの過度な蓄積をおさえている? → **低線量率長期被ばくでは?**

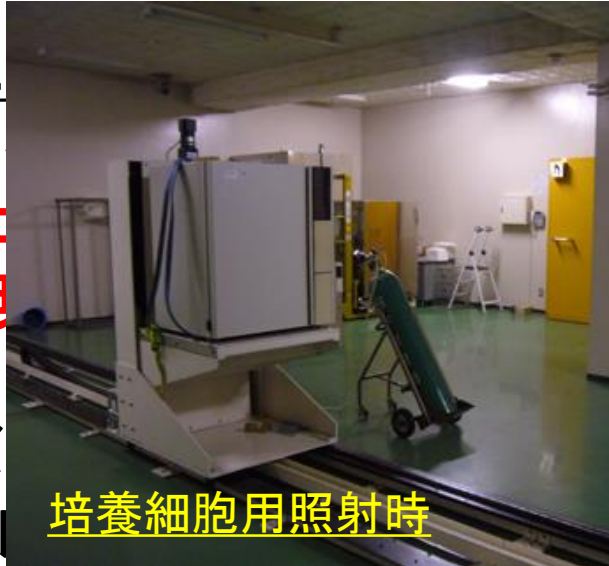
低線量(率)放射線生体影響研究の焦点

[焦点(目的)]
ヒト正常細胞に

1. 低線量(率)
積とそのメカニ
かかわり)を明

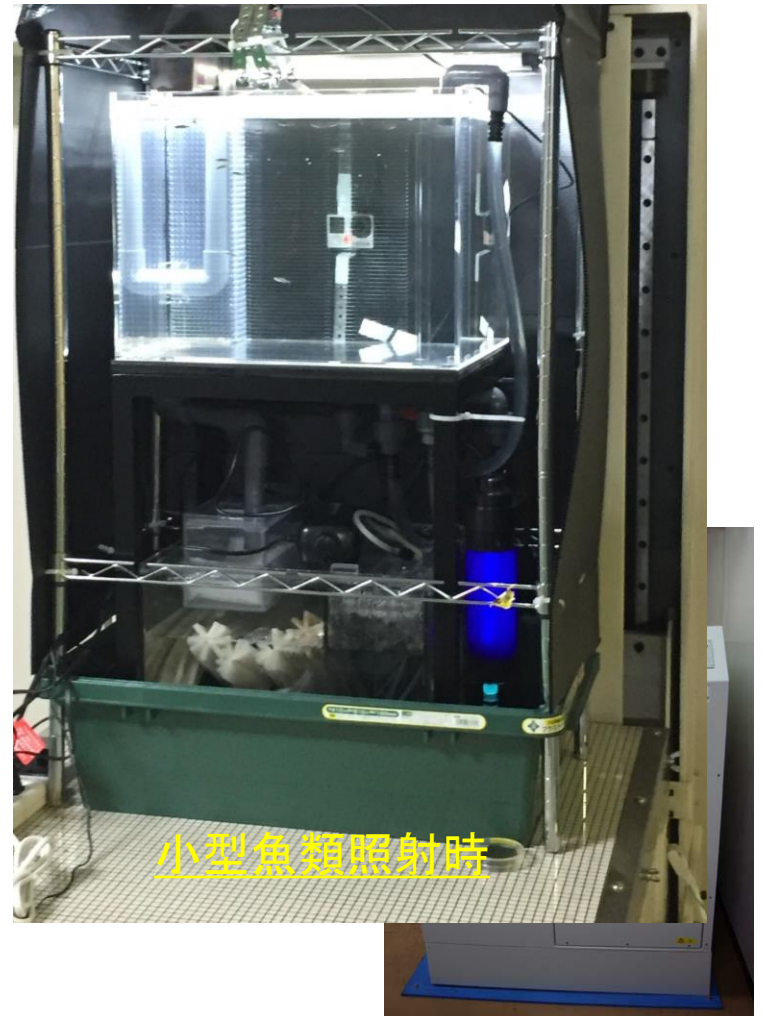
2. 低線量被ば
答と酸化スト
明らかにする。

3. ROS蓄積による低線量被ばくで誘
発されるマーカー因子(主に酸化ス
トレス応答関連)を探索する。



培養細胞用照射時

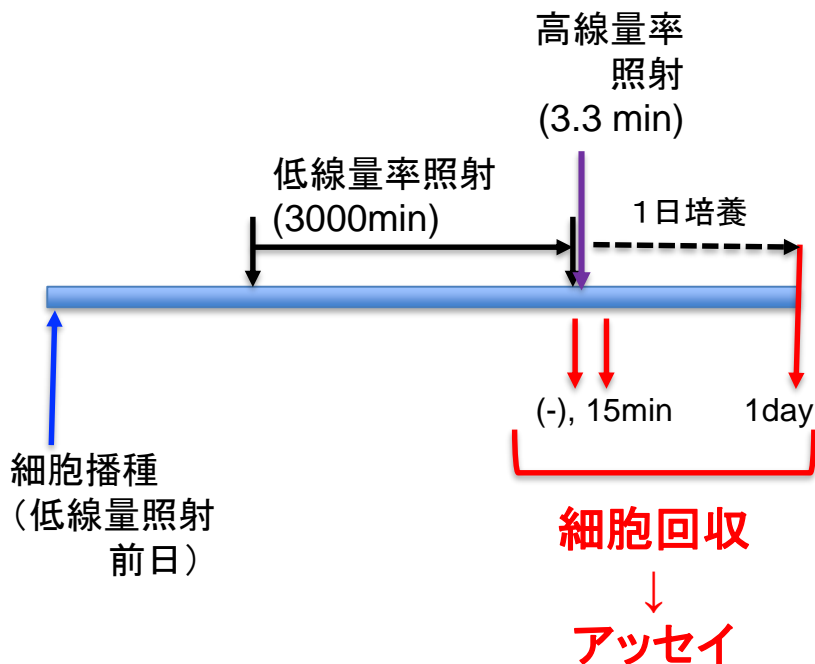
低線量率 (0.3mGy ~ 1.5 Gy/day)
<1.0 mGy/min



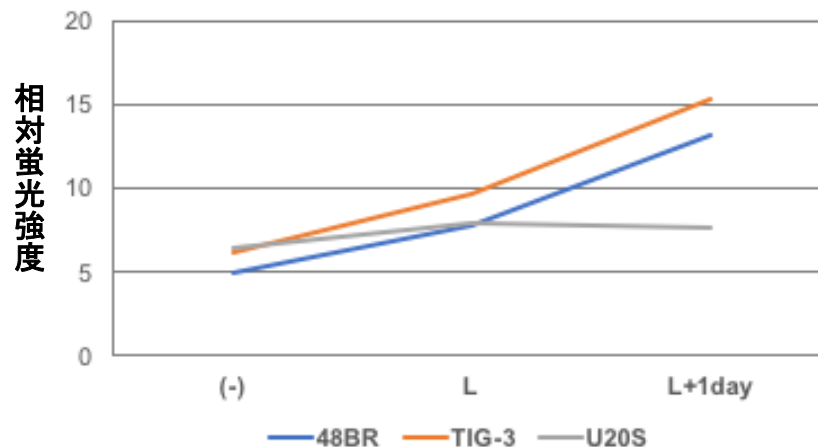
小型魚類照射時

低線量率照射におけるROS蓄積の持続

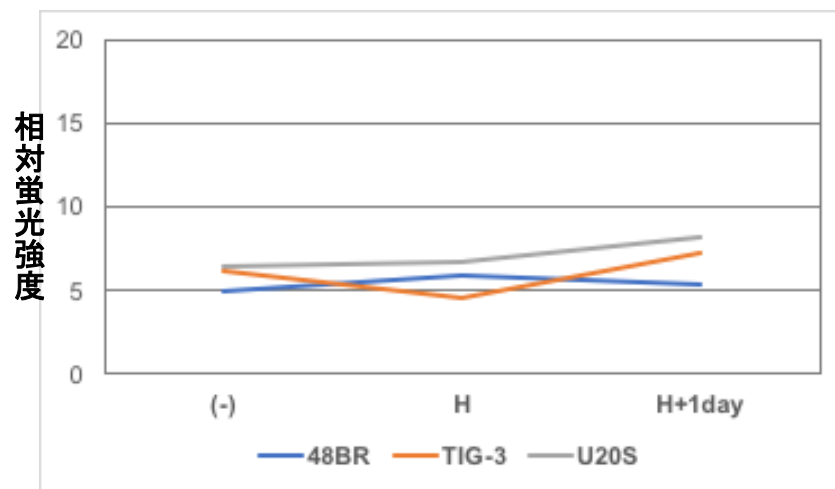
<実験スケジュール>



低線量率照射 (3 Gy: 1 mGy/min)

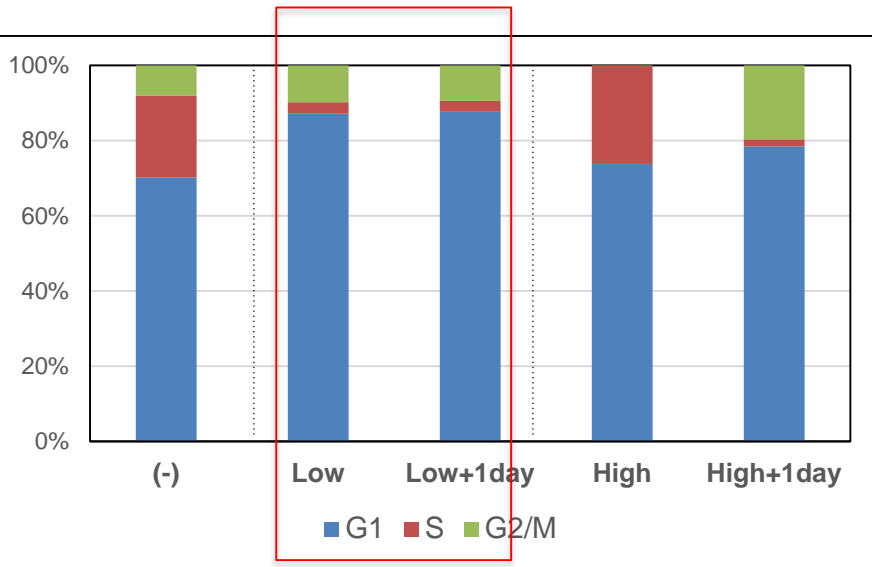


高線量率照射 (3Gy: 0.9 Gy/min)



低線量率照射の細胞周期進行・増殖への影響

正常細胞 TIG-3



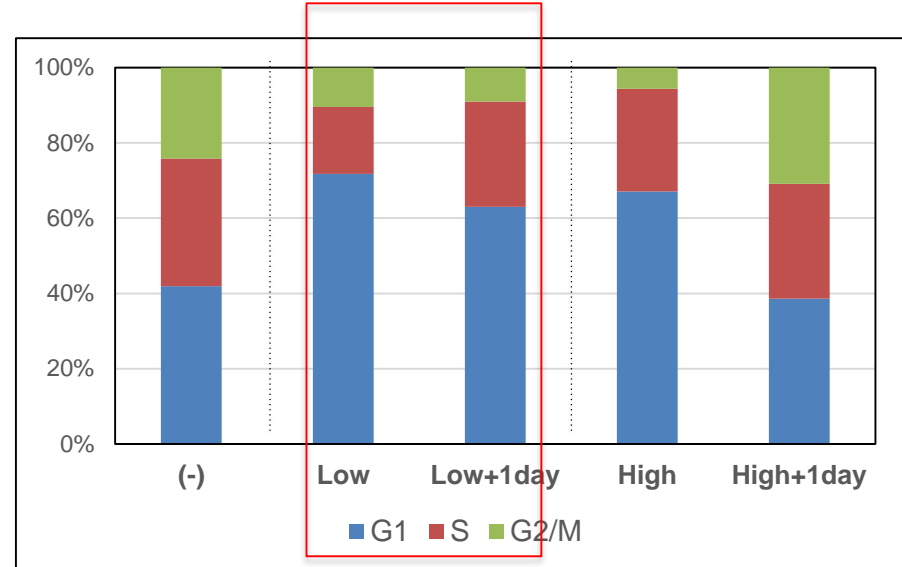
<高線量率>

S期増加→ G2 期増加

<低線量率>

G1期増加+ S期減少が持続

がん細胞 U2OS



<高線量率>

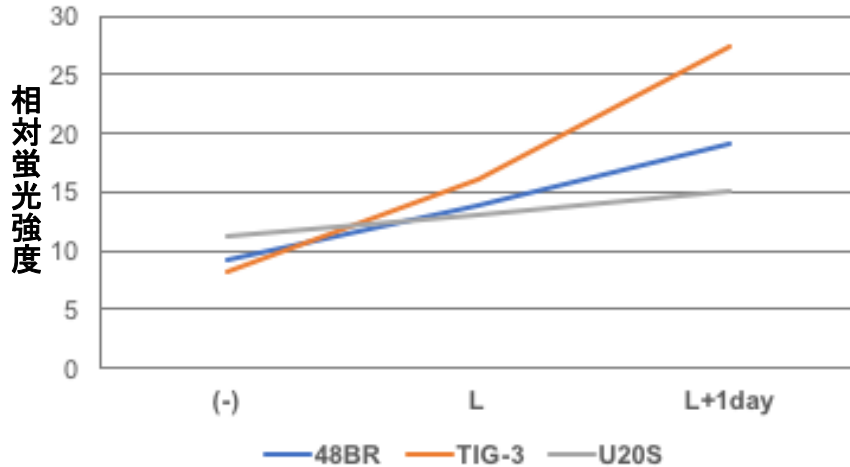
S期増加?→ G2 期増加

<低線量率>

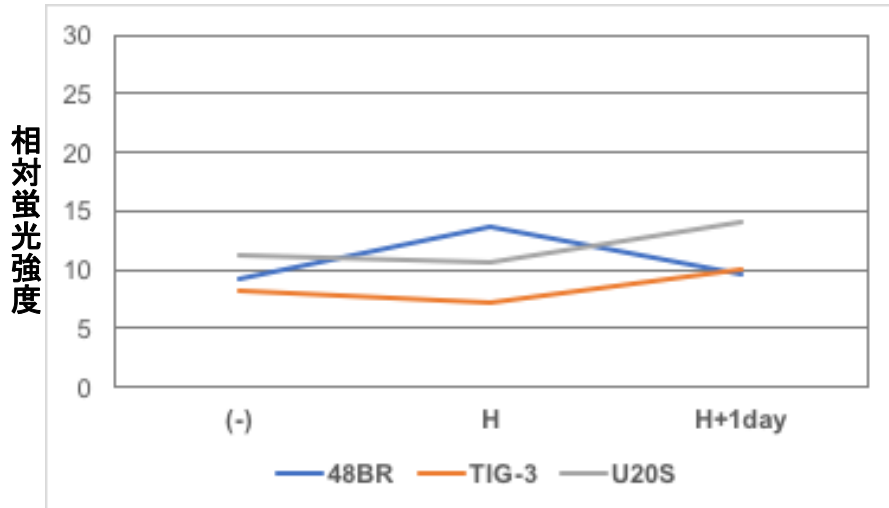
一時的にG1期が増加するが、S期へ移行

低線量率照射におけるスーパーオキシド蓄積

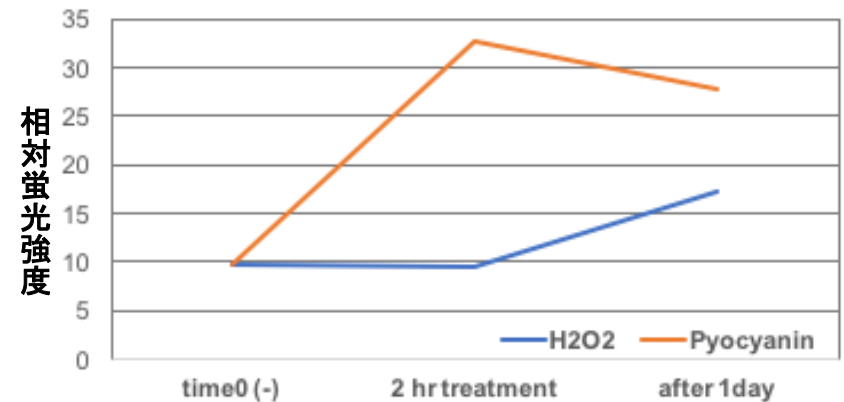
低線量率照射 (3 Gy: 1mGy/min)



高線量率照射 (3Gy: 0.9 Gy/min)



ROS誘発剤の効果持続



ROS誘発剤短時間処理で増加したスーパーオキシド(主にミトコンドリア由来)の増加は低線量率照射と同様に処理終了1日後も持続(増強)する。
→ミトコンドリア障害によりROS(スーパーオキシド)は持続するのでは？

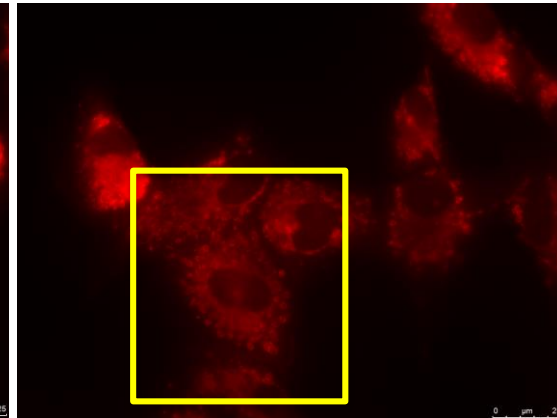
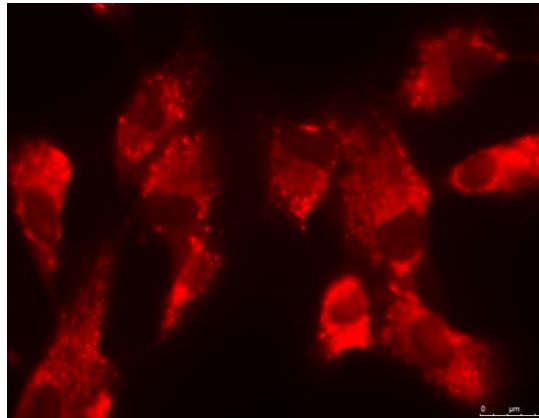
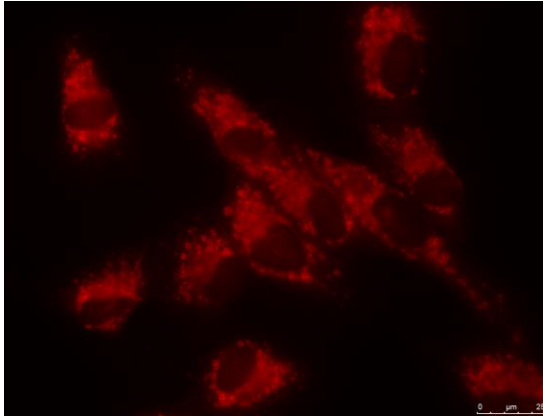
ミトコンドリアの可視化

(-)

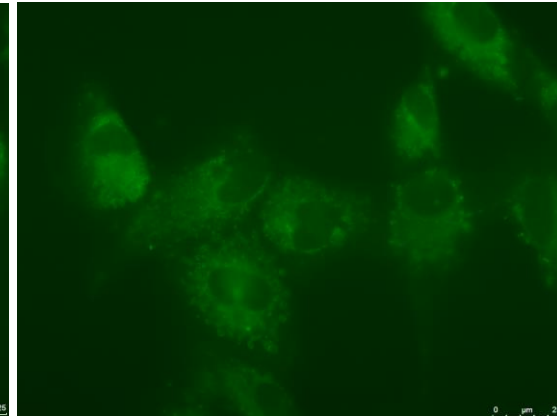
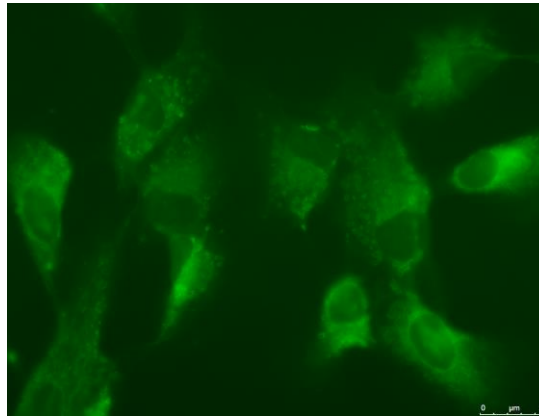
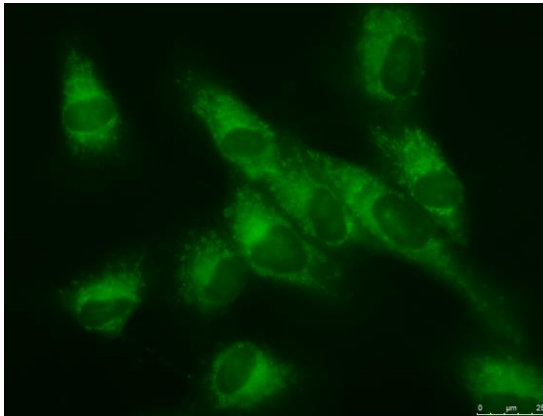
高線量率

低線量率

Mitotracker
Red



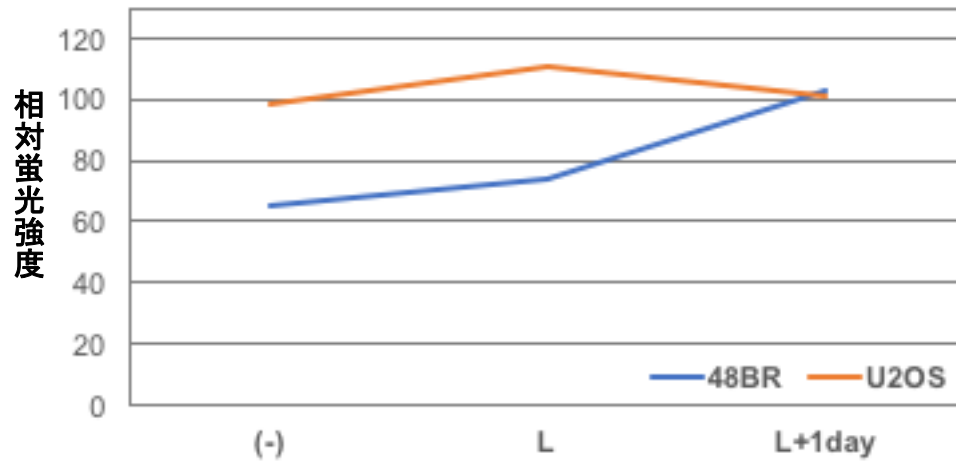
Mitotracker
Green



48BR細胞 (総線量 1.5 Gy)

低線量率照射におけるミトコンドリア量の増加

低線量率照射 (3 Gy: 1mGy/min)



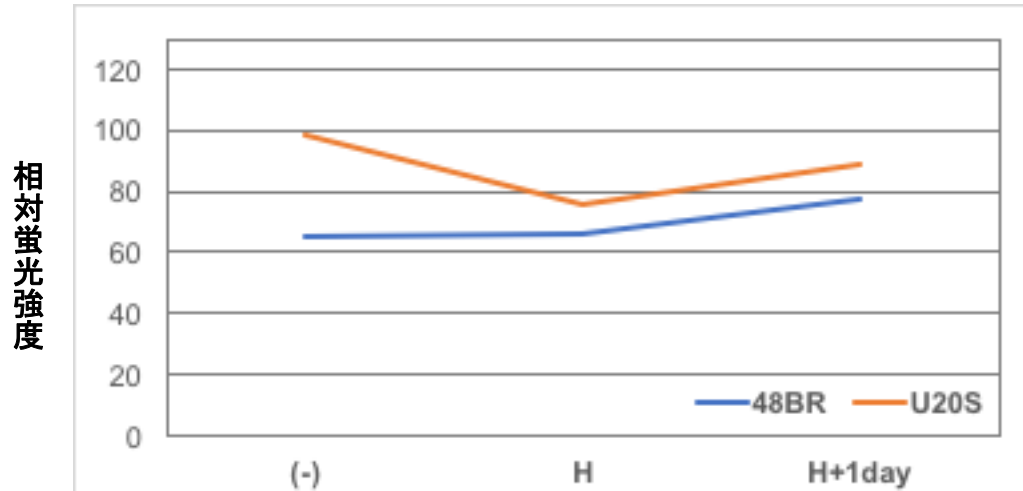
←MitoTracker Redの解析

ヒト正常細胞では低線量率照射でミトコンドリア量が増加し、その増加は照射終了1日後も持続する。

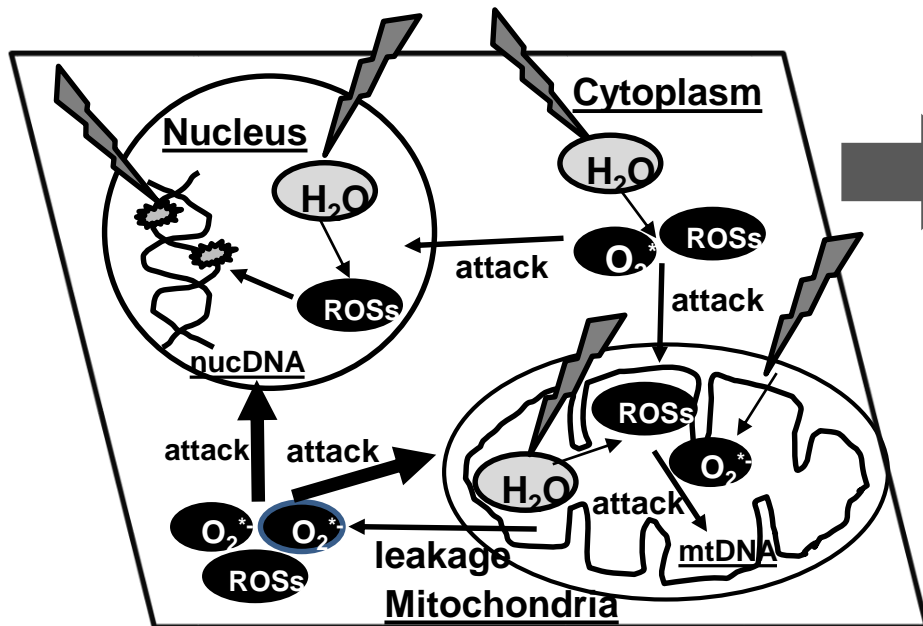
U2OS細胞では正常細胞よりミトコンドリア量が高いが、照射による顕著な増加はない。

正常細胞でのみ、低線量率照射ではミトコンドリア膜電位の異常もみられる

高線量率照射 (3Gy: 0.9 Gy/min)



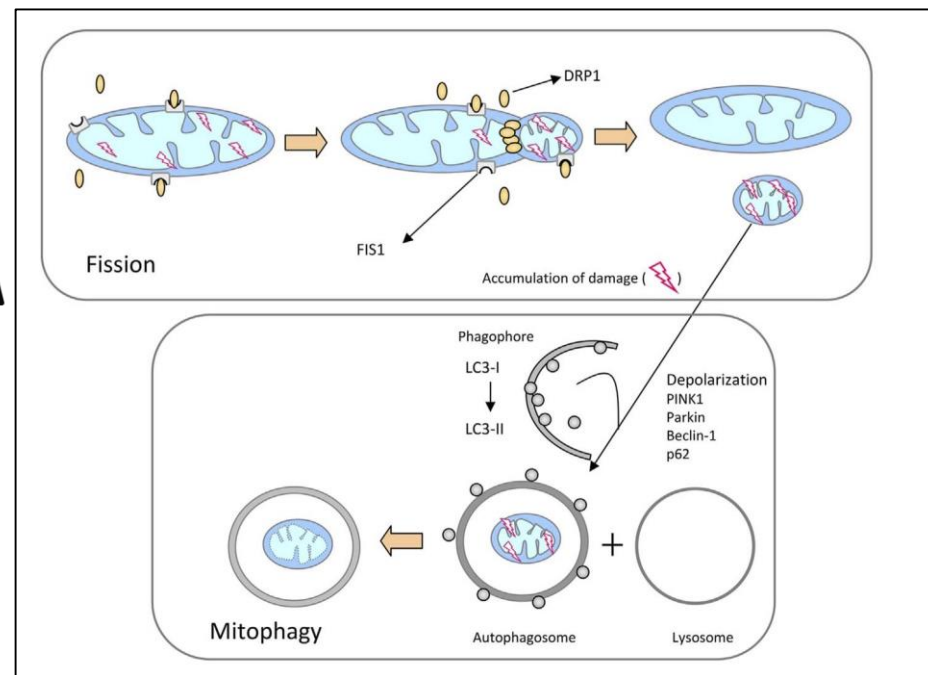
低線量率照射のミトコンドリア影響は？



低線量率長期照射では損傷ミトコンドリアのミトファジーによる除去に異常が生じ、異常にROS蓄積化？

ミトコンドリアは融合と分裂(fission)を繰り返しており、fissionはミトファジーと関連している。

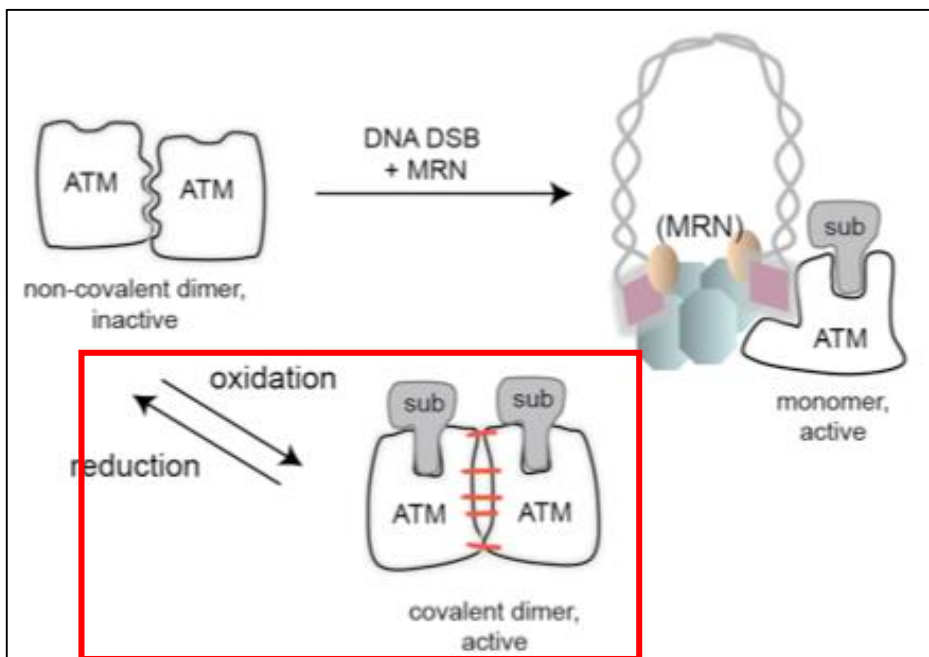
→mitochondria fission制御因子の異常が、膜の安定性を保てず、低線量率照射によるROSの漏えいにつながるのではないかと→制御因子への影響を検討中



Rovira-Llopis et al, Redox Biol, 2017

酸化ストレスによるATM活性化と細胞質機能

ATMの酸化ストレスによる活性化

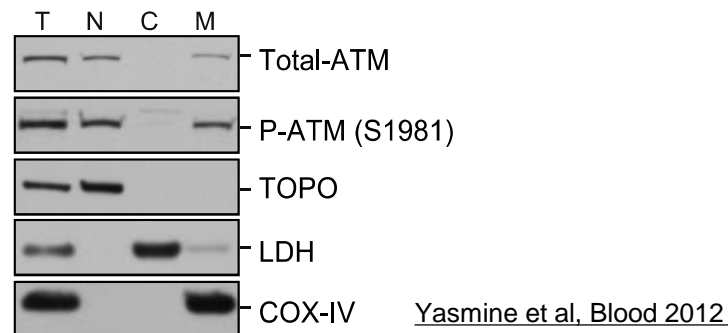


Guo Z et al., Science, 2010

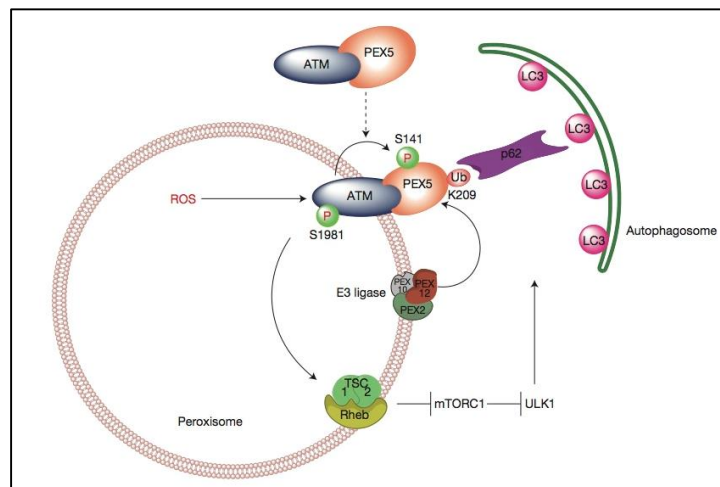
ATMは細胞質では酸化が顕著な細胞器官に局在する。
酸化で損傷した器官のオートファジーに機能か？

ATMのミトコンドリアへの分布

Normal Human Fibroblasts

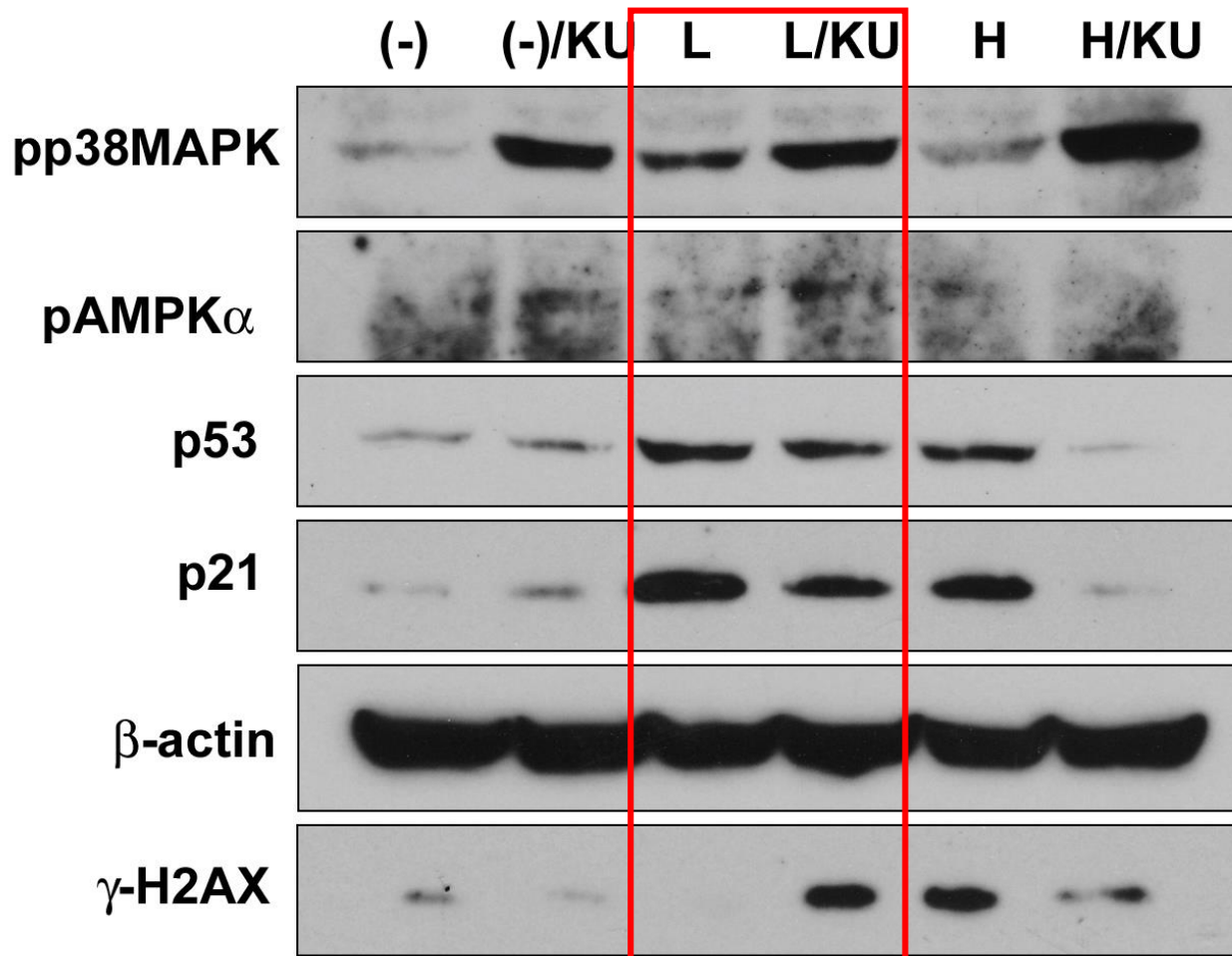


ペルオキシソームでの役割



Zhang et al, Nature Cell Biol, 2015

低線量率照射時のATMと酸化ストレスの関係



48BR細胞(総線量 3 Gy)

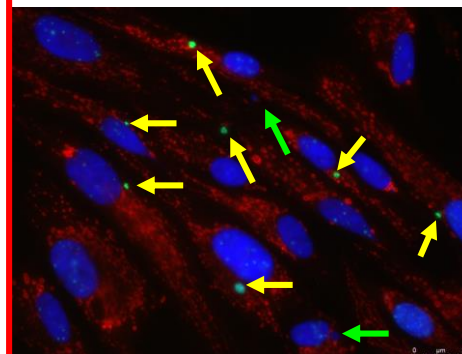
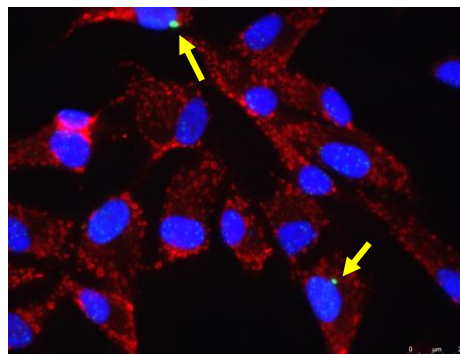
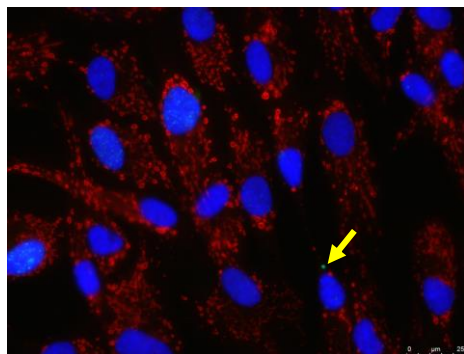
KU55933処理: 10 μ M継続で低線量照射開始から継続して添加

ATM阻害による γ H2AX陽性微小核の増加

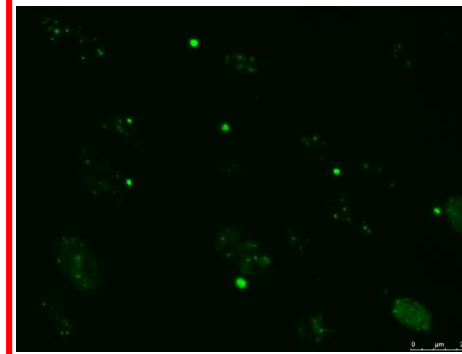
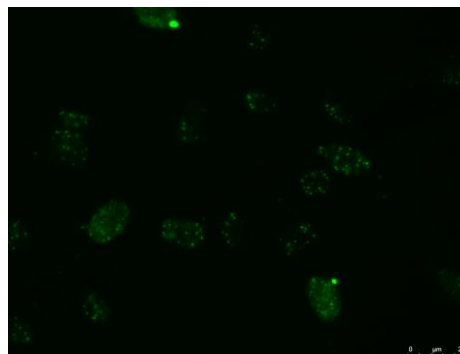
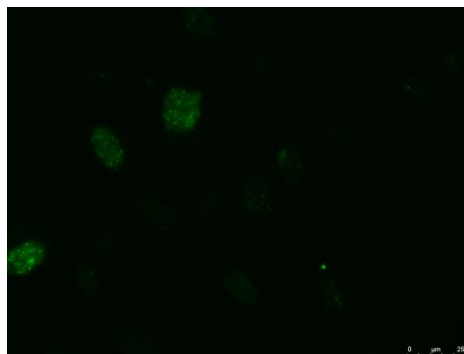
(-): 5%

高線量率: 11.8%

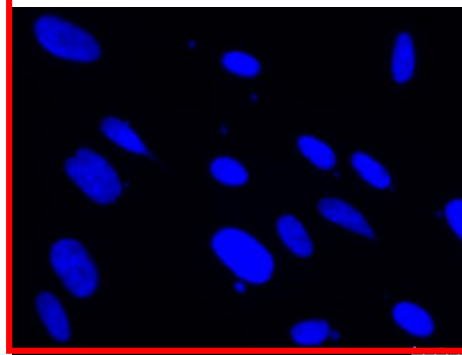
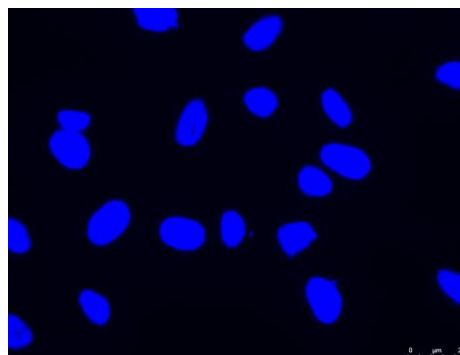
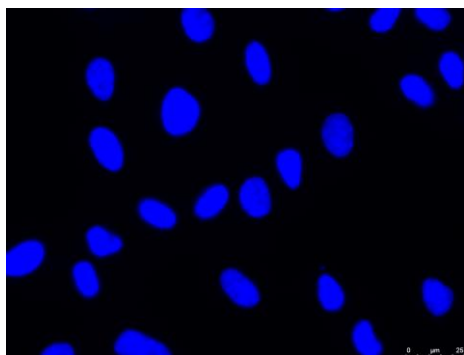
低線量率: 43.8%



緑: γ H2AX
赤: ミトコンドリア
青: 核(DAPI)



阻害剤未添加
では、非照射・
照射ともに微小
核の増加は見ら
れない。

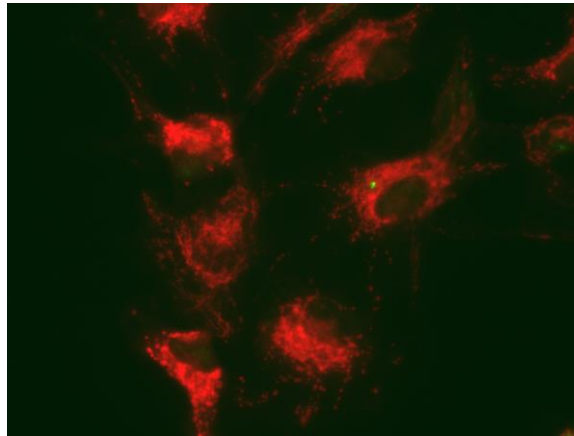


ATMキナーゼ
は抗酸化作用
を通して、微小
核形成(DNA損
傷)を防いでい
る

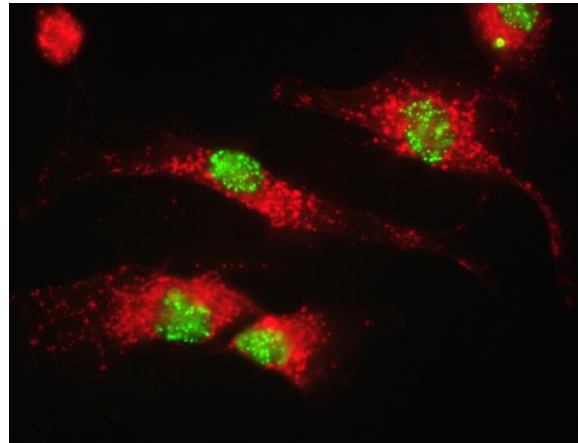
48BR細胞(総線量 3 Gy); KU55933処理: 10 μ M継続添加

血管内皮細胞での γ H2AX陽性微小核形成

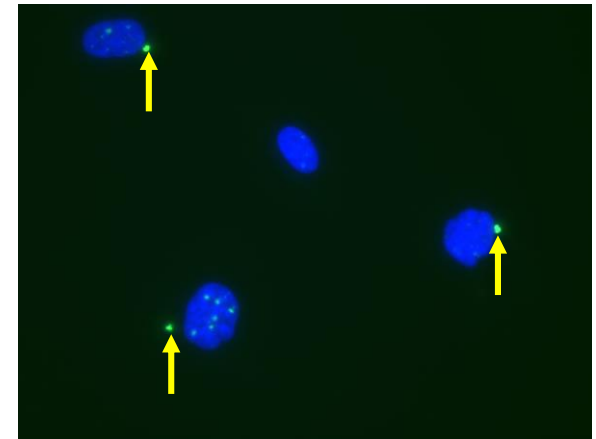
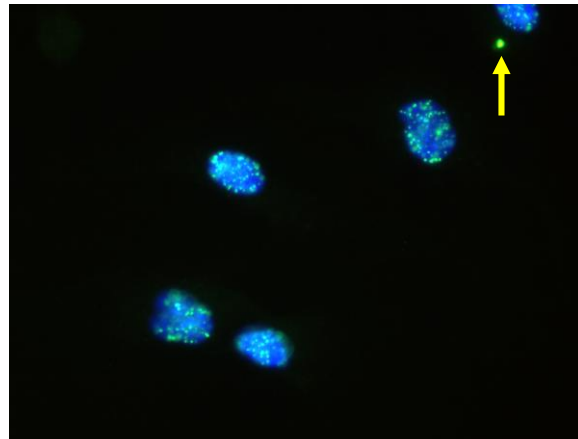
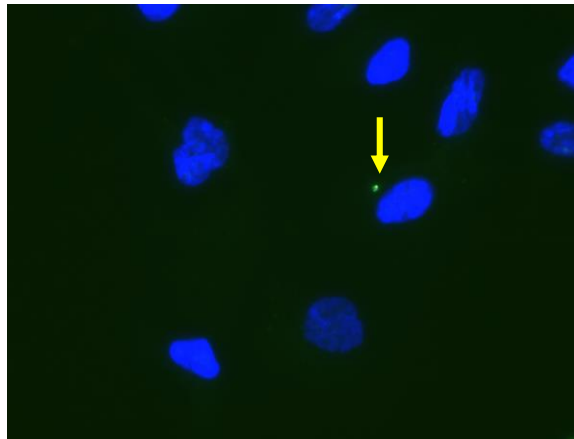
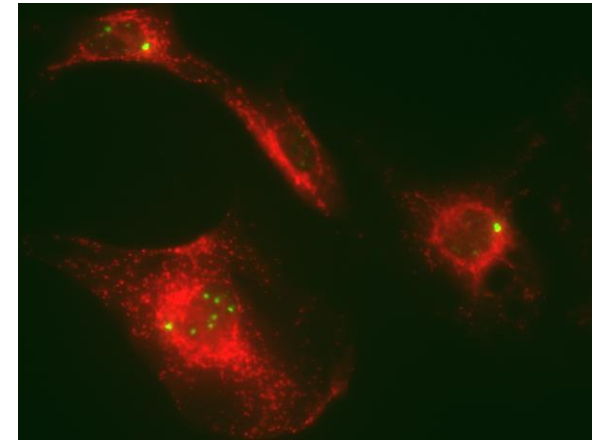
非照射:12.7%



高線量率:11.3%



低線量率:20.6%



緑: γ H2AX; 赤: ミトラッカーレッド; 青: DAPI
総線量 3Gy, 照射終了30分後に固定・染色

血管内皮細胞では、ATM阻害剤未添加での顕著に γ H2AX陽性微小核を形成
非照射でもATM阻害剤の添加は顕著な細胞増殖抑制(細胞死)を誘導。

低線量(率)放射線生体影響研究の焦点

[焦点(目的)]

ヒト正常細胞において

1. 低線量(率)被ばくにおけるROS蓄積とそのメカニズム(ミトコンドリアのかかわり)を明らかにする。
2. 低線量被ばくにおけるDNA損傷応答と酸化ストレス応答の相互作用を明らかにする。
3. ROS蓄積による低線量被ばくで誘発されるマーカー因子(主に酸化ストレス応答関連)を探索する。

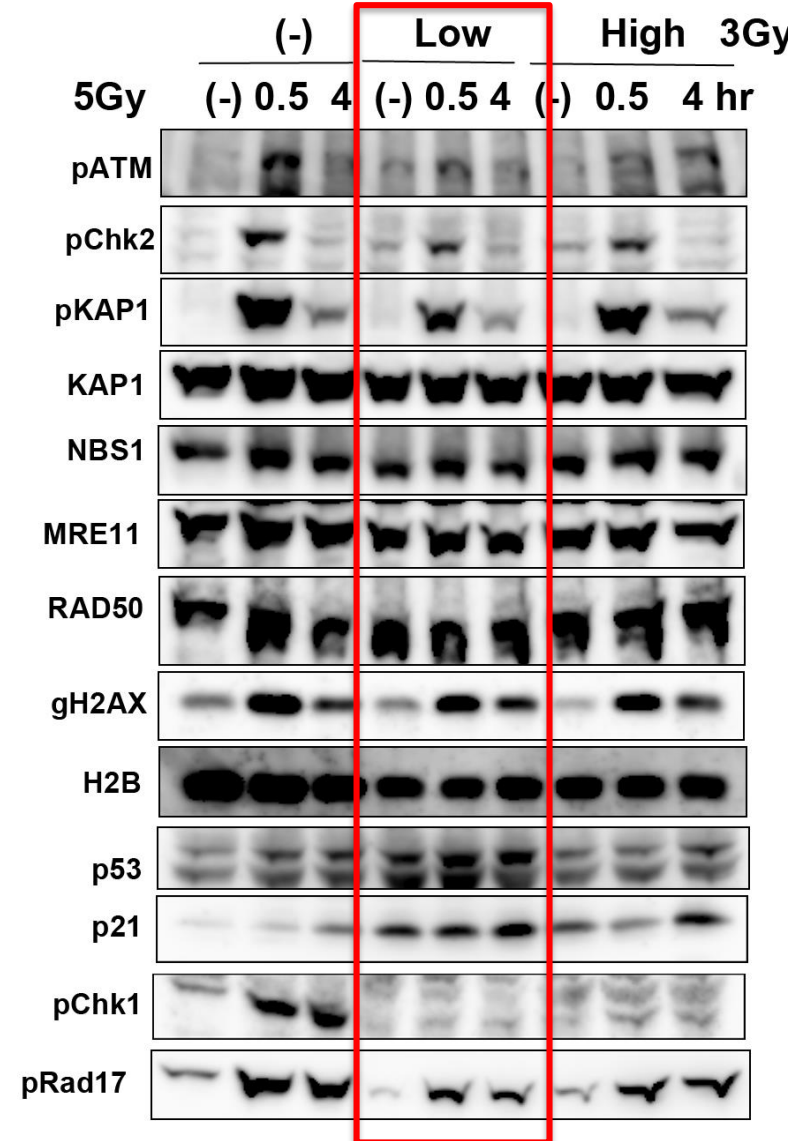
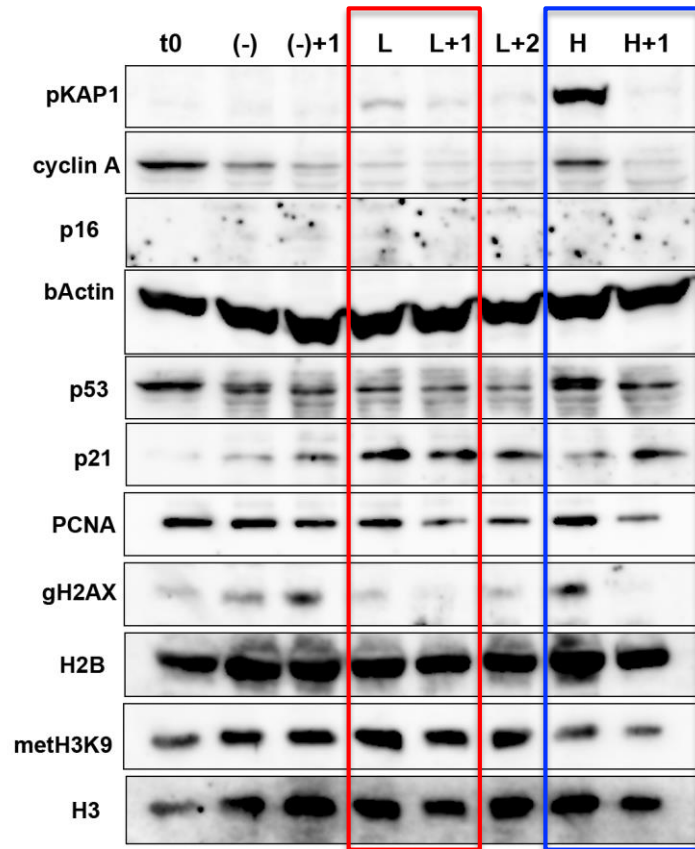
低線量率 (0.3mGy ~1.5 Gy/day)
<1.0 mGy/min



高線量率
(0.9 Gy/min)

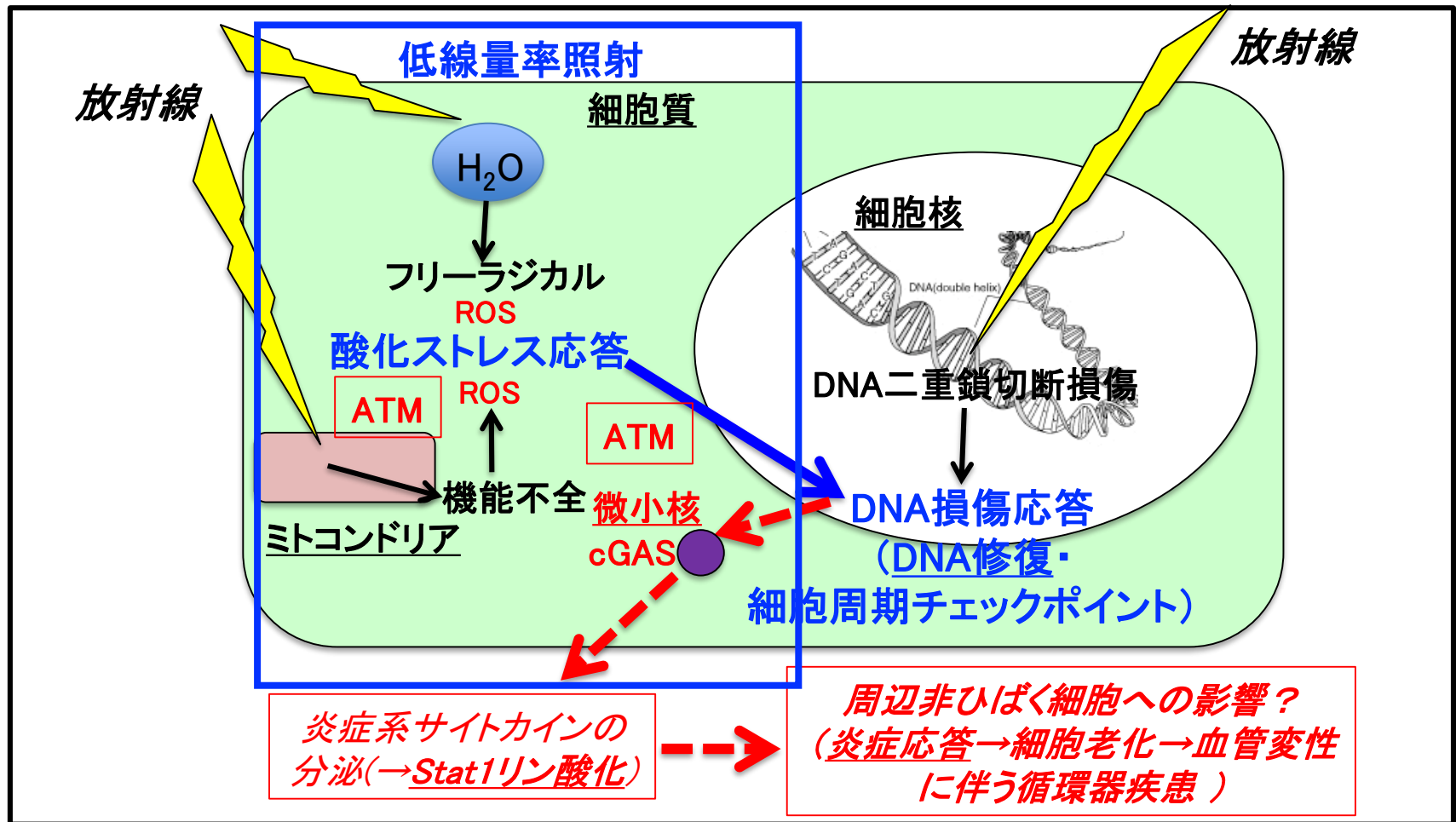


低線量率放射線照射のATM/ATR経路への影響



3Gyの低線量率前照射から24時間後に5Gyの急照射を行った場合、ATM/ATR依存的なリン酸化が顕著に低下する。

低線量率放射線による微小核形成とATM



ATMはミトコンドリアなどROS産生器官で酸化ストレス除去に機能する。
低線量率長期照射時のATMの機能不全は微小核を増加させる。
→微小核はcGAS活性化・炎症応答の活性化を周辺細胞に誘導する可能性がある

まとめ

- ヒト正常細胞は低線量率放射線照射によりROSの持続的蓄積が起こるが、高線量照射時、がん細胞では誘導されない。
- ROS蓄積はミトコンドリア機能低下・ミトファジー異常による損傷ミトコンドリアの残存によって誘導される可能性がある。
- ATMの機能不全が低線量率長期照射時に起こると、微小核形成を誘導する。
- ATMは放射線被ばく時にDNA損傷応答とともに酸化ストレス応答でも重要機能を持つ。

共同研究者

京都大学

大学院人間・環境学研究科
分子・生命環境論講座

河村香寿美

齐菲

孟庆梅

曹子牧

小松賢志

広島大学

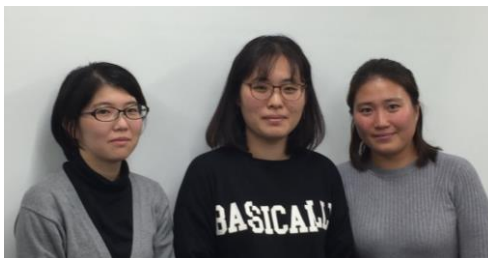
松浦伸也

林幾江

茨城大学

田内広

立花章



Queensland Medical
Institute

Martin Lavin

CEA (France)

Paul-Henri Roméo

Pablo Radicella

University of Texas,
Southwestern

Medical Center

David Chen

研究助成

- ・科学研究費補助金
基盤研究費
新学術領域研究

「宇宙に生きる」

- ・放射線の健康影響に係る
研究調査事業(環境省)
- ・核融合研究所LHD共同計画
研究



国立大学法人
総合研究大学院大学
物理科学研究科 核融合科学専攻