

### (3) 原子炉中性子線によって生じるDNA損傷種の解明

岡山大学自然生命科学研究支援センター

寺東 宏明

近畿大学原子力研究所

山西 弘城、松田 外志朗

#### **Introduction**

電離放射線(以下、放射線)の生物効果は、遺伝物質DNAに傷害を与えることにより表出するが、放射線DNA損傷に関する研究成果は、 $\gamma$ 線やX線など、従来より多用される線種によるものがほとんどであり、それ以外の線質による損傷の様態は不明な点が多く残されている。私は、そのような状況を打破すべく、重粒子線によって生じるDNA損傷の分析を行ってきた[1, 2]。その研究成果として、重粒子線のような高LET放射線では、 $\gamma$ 線のような低LET放射線と異なるDNA損傷種が生じること、またその収率が異なることがわかった。高LET放射線に特徴的なDNA損傷形態はクロスリンクDNA損傷とクラスターDNA損傷の2種類があるが、クロスリンクDNA損傷は、タンパク質等の分子がDNAと結合するもので、その嵩高さからDNA合成阻害能が高く、また修復効率も低い。一方、クラスターDNA損傷は、放射線がビームとして標的DNAを通過する際に、その軌跡に沿って複数の損傷を生じるものである。これは修復プロセスによりDNA合成阻害能が高く、また正確な修復がされにくいDNA二本鎖切断(DSB)を生じ、放射線生物効果の主要因とされるものである。クラスターDNA損傷は、放射線のLETが高くなるほど、損傷の密集度が高くなり、生物効果も大きくなる。原子炉中性子は、高LET放射線であり、重粒子線と同様にこれら2種類のDNA損傷が高効率で生成すると考えられ、それが中性子線特異的な生物影響表出に関わっていることが期待される。そこで、本研究は、原子炉中性子によって生じるDNA損傷の分析を行い、中性子線による生物効果の分子機構の解明を目的とする。

これまでの研究で、精製プラスミドDNA分子を照射対象として損傷分析を行い、線量に応じて一本鎖切断(SSB)の生成収量が増えること、その収量は0.9 Gyで21%であり、 $\gamma$ 線やX線の収量より大きく、重粒子線の収量に類似していることがわかった。このことは中性子線が高LET放射線に特徴的なDNA損傷生成を示すことを意味する。一方、塩基損傷やDSBの収量は低く、重粒子線と異なる特徴を示すことがわかった。

#### **Materials and Methods**

前述の通り、精製DNA分子を照射対象とした分析により、中性子線のDNA損傷収率の傾向が分かったことから、今年度は細胞内DNA損傷の生成について検討を行うこととした。チャイニーズハムスター卵母細胞(CHO)AA8株を培養し、80%コンフルエントになった状態でトリプシナイズ処理により細胞を回収し、25 cm<sup>2</sup>フラスコに10<sup>4</sup>個ずつ播種し、1日培養する。その後、トリプシナイズでマイクロチューブに細胞ペレット状態で回収し、近畿大学原子炉にて中性子線照射を行った。照射線量は0、0.3、0.6、0.9 Gyとした。各線量での照射後、細胞を培地に再懸濁し、60 mm  $\phi$ シャーレに再播種し、10日間培養し、コロニー形成をさせた。その後、エタノール固定を行い、0.05%メチレンブルーで染色し、コロニーを計数して、生存率を算出した。

## Results

中性子線に対する細胞の感受性は、線量依存的に上昇した(図1)。その感受性の上昇は線量に対し線形であり、一般的な放射線感受性と同様であった。一方、その感受性の度合いは $\gamma$ 線やエックス線に対して大きく、 $D_{37}$ は0.35 Gyであった。これは $\gamma$ 線でみられる値の1/10であり、中性子線が他の高LET放射線と同様、高い生物影響を示すことと一致する。また、前年度の結果で得られた中性子線での高いDNA損傷収率とも整合性がある。一方で、前年度の結果では、他の高LET放射線と異なり、細胞の生死に直接関わると考えられるDSBの収量が低かったことから、中性子線に対する高感受性に関わるDNA損傷種の解明が必要である。

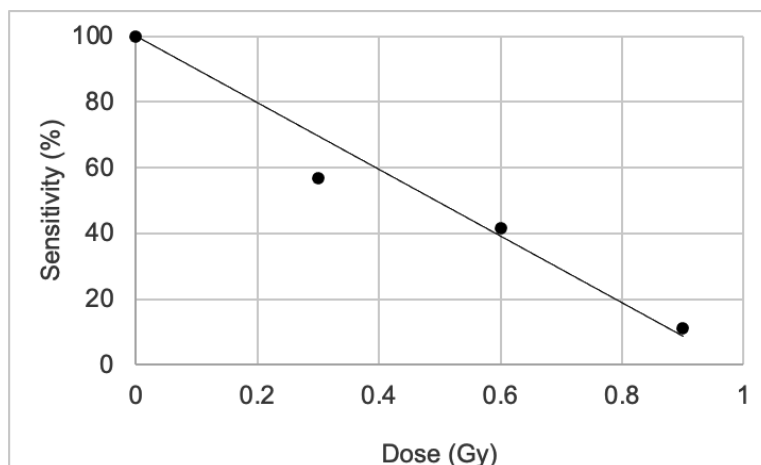


図 1. 中性子線照射を行った CHO-AA8 の生存率プロット。

## Future Work

今後は、培養細胞を用いた細胞内DNA損傷生成の分析を行い、中性子DNA損傷とその生物影響の全貌を明らかにしていく。

## References

- [1] H. Terato et al., J. Radiat. Res., 49 (2008) 133-146.
- [2] Y. Tokuyama et al., J. Radiat. Res., 56 (2015) 446-455.

## 業績一覧

寺東宏明, 磯辺みどり, 花房直志, 徳山由佳, 森加奈恵, 齊藤剛, 松田外志朗, 山西弘城「原子炉中性子によって生じる DNA 損傷とその生物影響」日本放射線影響学会第 62 回大会, 2019 年 11 月 14-16 日

## 実験・測定補助者

磯辺みどり, 花房直志(以上、岡山大学)

徳山由佳, 森加奈恵(以上、佐賀大学)

齊藤剛(京都大学)

(計5名)