

低線量／低線量率放射線に対する生体応答

福井大学医学部

松本 英樹

「どれだけヒトは放射線を被ばくしても健康に支障がないか」という放射線のリスク線量は、高線量の放射線による実験データから評価されている。これは慎重に且つ控えめに吟味されたものであるが、ヒトを含めた生物は低線量放射線に対して高線量放射線に対するそれとは異なった応答様式を備えている可能性を示唆する知見が数多く発表されており、その妥当性については議論の余地があるという意見が聞かれる。近年、放射線癌治療においても、治療期間の短縮・生物効果の不均一性の克服を考慮した密封小線源による組織内照射では低線量率連続照射が行われている。強度変調放射線治療(IMRT)においても線量率から考えると場合によっては低線量率照射となることがあり、また周辺の正常組織に低線量被ばく域が存在している。したがって、放射線癌治療における低線量・低線量率照射及び被ばくが新たな問題を浮き彫りにして行く可能性が考えられる。

このような背景を踏まえて、低線量放射線に対する生体の応答現象の中で、最近注目されている放射線超感受性及び放射線抵抗性増加(Hyper-radiosensitivity and Increased radioresistance), 放射線適応応答(Radiation adaptive response)及び放射線誘発バイスタンダー効果(Radiation-induced bystander effect)の関連性について概説する。

1 放射線超感受性及び放射線抵抗性増加

LQモデルによる細胞の放射線感受性を線量-生存率曲線で表すと、亜致死的損傷修復によってもたらされる「肩」と呼ばれる曲線が低線量域において認められる。グレイ癌研究所のJoinerらは、1 Gy以下の低線量域、いわゆる「肩」の部分の生存率をFACScanによる細胞数の正確な測定技術及び播種した細胞をリアルタイムに顕微鏡下で観察する技術を用いて精査することにより、0～0.5 Gyでは急激な生存率の低下が認められ、0.5～1 Gyでは再び生存率の回復が起こり、1 Gy以上ではLQモデルの生存率に一致してくるという現象を見出した。彼らは、

0～0.5 Gyでの急激な生存率の低下を放射線超感受性(hyper-radiosensitivity, HRS), 0.5～1 Gyでの生存率の回復を放射線抵抗性増加(increased radioresistance, IRR)と呼んだ¹⁾(図1)。HRS及びIRRは、ほぼすべての細胞に認められる普遍的な現象と考えられる。さらに彼らはHRS及びIRRにも適応応答があるのか否かを検討し、0.2 Gyの前照射と本照射との間のインターバル時間が6時間では明らかな適応応答によるHRS及びIRRの消失することを見出した²⁾。これらの結果より、0～0.5 Gyの線量範囲で認められるHRSは、損傷が小さく修復系の誘導が起こらないために誘引される致死効果の現れで、0.5～1 Gyの線量範囲で認められるIRRは、DNA損傷が認識され、修復系の誘導が起こるために現れ、1 Gy以上においては、損傷量が修復量を上回るために起こる致死効果として結論付けている。しかしながら、0～0.5 Gyの線量範囲で認められるHRSには、後述する放射線誘発バイスタンダー効果による細胞致死(特にアポトーシス)の誘導が関連している可能性は否定できない。

2 放射線適応応答

放射線適応応答は、ほぼ20年前の1984年に Wolff

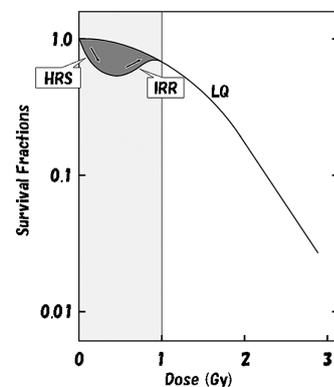


図1 放射線超感受性(HRS)と放射線抵抗性増加(IRR)

らがヒトリンパ球の染色体異常の誘発に関する研究から見出した現象である³⁾(図2)。その後、異なった細胞系を用いて彼らの発見を支持する結果がいくつか報告された。この放射線適応応答は哺乳動物の培養細胞及び個体双方において観察されることは周知の事実であり、染色体異常、突然変異、放射線感受性等の様々な生物現象において確認されている³⁻⁶⁾。米澤らはマウスを用いた実験から、①0.025 Gy以下では適応応答は誘導されなかった、②0.05～0.1 Gyでは2～2.5か月後の半月間に適応応答による放射線抵抗性の獲得が認められた、③0.15～0.2 Gyでは再び適応応答は誘導されなかった、④0.3～0.5 Gyでは2週間後に適応応答による放射線抵抗性の獲得が認められたと報告している⁵⁾。

今のところ放射線適応応答の誘導メカニズムは明らかにされていないが、いくつかの仮説が提唱されている。佐々木は、放射線適応応答にPKCの活性化が必須であることを示すとともに、PKCによるタンパク質のリン酸化がもたらす細胞内シグナル伝達経路が低線量放射線によって誘導される細胞内シグナル伝達系のキーステップであり、このシグナル伝達系にはp53及びPI3Kの機能が関与することを示した⁷⁾。高橋は、正常型p53細胞において高線量率放射線単独照射で観察されるp53の蓄積・活性化及びアポトーシスの誘導が予め低線量率放射線照射によって顕著に抑制されることを見出し、これが放射線適応応答のメカニズムの一つであることを提唱した⁸⁾。

3 放射線誘発バイスタンダー効果

1992年、NagasawaとLittleが非標的細胞におけるDNA損傷に因らない間接的な放射線影響について報告したのが放射線誘発バイスタンダー効果の最初の

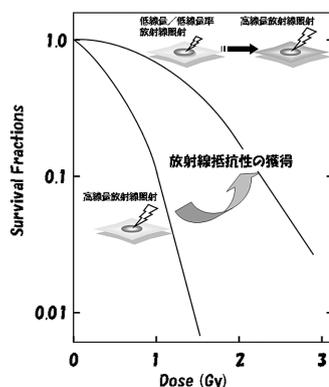


図2 放射線適応応答

論文⁹⁾であり、その後多くの放射線誘発バイスタンダー効果に関する論文が報告されているが、そのほとんどが低線量の α 粒子を用いた実験である。放射線誘発バイスタンダー効果においても、放射線適応応答と同様に、細胞死の亢進、姉妹染色分体交換、染色体不安定性、突然変異、細胞内活性酸素種の増加、p53細胞内含有量の増加あるいは減少等様々な生物現象が観察されている(図3)。最近では細胞レベルに限らず個体レベルにおいても放射線誘発バイスタンダー効果が認められている。

放射線誘発バイスタンダー効果のメカニズムは十分に明らかにされていないが、放射線に直接曝露された標的細胞とそうでない非標的細胞(バイスタンダー細胞)間の細胞間シグナル伝達系が重要な役割を果たしていることは容易に想像がつく。隣接する細胞間での低分子物質の交換に関わっているのがギャップ結合である。ある細胞を低線量放射線が通過すると放射線応答シグナルによる化学反応が誘発され、その反応産物(バイスタンダー因子)が隣接するバイスタンダー細胞へギャップ結合を通じて移行し、バイスタンダー効果が誘発されるというモデルが提唱されている¹⁰⁾(図4A)。もう一つの隣接する細胞同士の結合様式としてリガンドとその受容体による結合があり、これによっても放射線誘発バイスタンダー効果が生まれる可能性が考えられる(図4B)。標的細胞とバイスタンダー細胞間でのFas及びFasリガンドによるアポトーシス誘導はこのモデルの典型であるが¹¹⁾、1 Gy以下の低線量放射線によるFasあるいはFasリガンドの誘導は報告されていない。

隣接せず離れた場所に存在する細胞間でのバイスタンダー効果の誘発には、放射線に曝露された標的細胞から分泌される可溶性のバイスタンダー因子が関与していることが報告されている。MothersillとSeymourは、0.5 Gyの γ 線を照射した細胞のコンディション培地(irradiated conditioned medium, ICM)への曝露によるバイスタンダー細胞の生存率の低下を

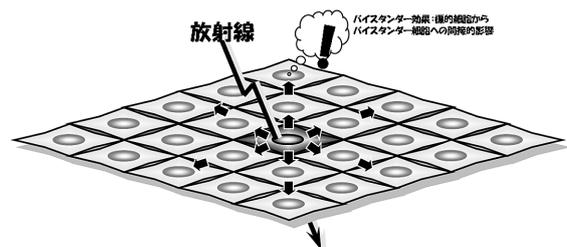


図3 放射線誘発バイスタンダー効果

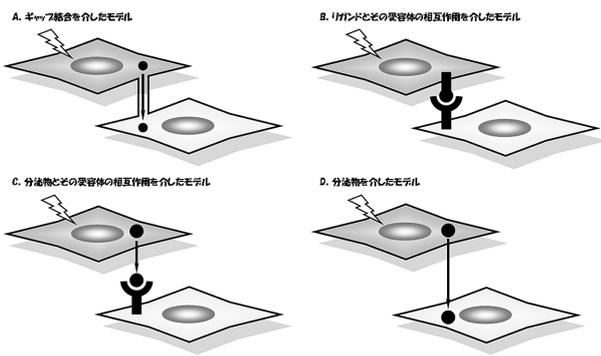


図4 放射線誘発バイスタンダー効果の発現モデル

見出し、標的細胞から分泌される可溶性のバイスタンダー因子がタンパク質様の生理活性物質であることを示した¹²⁾。Lehnertらは、8.4cGyの α 粒子を照射された標的細胞から分泌される可溶性のバイスタンダー因子が活性酸素種、TNF- α あるいはTGF- β 1である可能性を示した^{13, 14)}。Barcellos-Hoffらも標的細胞から分泌される可溶性のバイスタンダー因子がTGF- β 1の可能性を示唆している¹⁵⁾(図4C)。筆者らは、バイスタンダー因子の一つが内因性の nitric oxide (NO) ラジカルであることを見出している^{16, 17)}(図4D)。

4 放射線適応応答へのバイスタンダー効果の寄与

高LET放射線では、放射線適応応答は認められないと理解されている。また、高線量の電離放射線への曝露に先だって予め低線量の電離放射線に直接曝露された「細胞集団」が放射線適応応答の実験対象であった。一方、今まで報告されてきた放射線誘発バイスタンダー効果は、細胞の生存に悪影響を与える現象がほとんどであり、また高LET及び低LET放射線何れにおいても認められる現象であるために、細胞の生存を促す放射線適応応答とは無縁の現象として捉えられていた。このような研究背景を再考すると二つの疑問が生じてくる。一つは、本当に高LET放射線では放射線適応応答は認められないのであろうかという疑問である。もう一つは、ある「細胞集団」を低線量放射線に曝露させた場合、直接放射線が細胞内を通過した細胞と全く放射線が通過していない細胞の両者が存在する可能性が考えられ、そのような環境下で対象となっているすべての細胞において放射線適応応答が誘導されていると考えれば、放射線抵抗性の獲得に放射線誘発バイスタンダー効果が大きく寄与しているのではないかという疑問である。最近、放射線誘発バイスタンダー効果にも細

胞の生存に有利な現象も存在することを示す知見が蓄積されてきている。筆者らは、高及び低LET放射線(炭素線及びX線)が誘発するバイスタンダー効果によりバイスタンダー細胞に放射線抵抗性が誘導されることを見出し、内因性NOラジカルがバイスタンダー因子であることを示した^{16, 17)}。また、正常細胞を低線量率放射線照射に引き続いて高線量率放射線照射すると、p53の蓄積及び活性化が抑制され、iNOSの誘導が起り、NOラジカルが産生されることを見出している。Shaoらは、1Gy以上の高LET及び低LET放射線(炭素線及びX線)が誘発するバイスタンダー効果によるバイスタンダー細胞の生着率の上昇及び微小核形成率の低下を見出し、NOラジカルがバイスタンダー因子であることを示した¹⁸⁾。Lehnertらは、低線量の α 粒子を照射した細胞の培養液をバイスタンダー細胞に曝露し、放射線抵抗性が誘導されることを見出した¹⁹⁾(図5)。したがって、放射線適応応答による放射線抵抗性の獲得に内因性NOラジカルを介したバイスタンダー効果が関与している可能性が強く示唆される(図6)。

5 おわりに

以上、HRS・IRR、放射線適応応答及び放射線誘発バイスタンダー効果を概説するとともに、それらの関連性について述べた。低線量/低線量率放射線に特有の応答現象は、これらの相互作用によりもたらされる現象であるように思える。

米国をはじめ英国や日本でも、HRS・IRR、放射線適応応答及び放射線誘発バイスタンダー効果の詳細

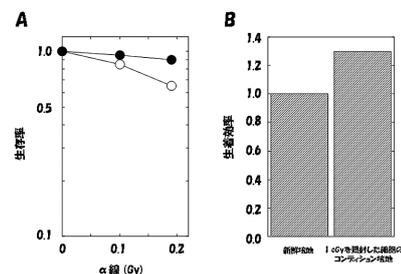


図5 α 線誘発バイスタンダー効果による放射線抵抗性の誘導(A)と生着率の上昇(B)
○：未処理HFL-1細胞の α 線に対する感受性
●：1cGyの α 線を照射したHFL-1細胞を1時間培養したコンディショニング培地中のHFL-1細胞の α 線に対する感受性
Iyer and Lehnert (2002)より改変

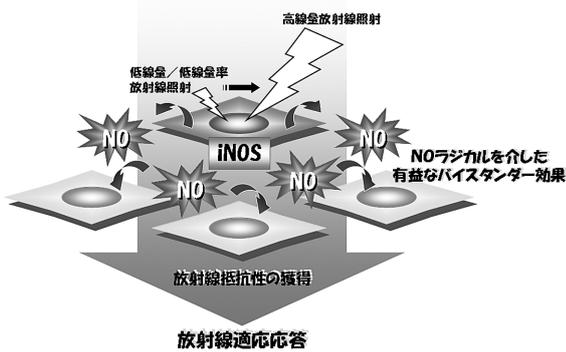


図6 放射線誘発バイスタンダー効果の放射線適応応答への寄与

なメカニズムの解明のためにマイクロビーム放射線照射装置が開発されている。筆者も日本原子力研究開発機構量子ビーム応用研究部門バイオ応用技術研究ユニットにより開発された重イオンマイクロビーム細胞照射システム(細胞局部照射装置)を使用し、NOラジカルをバイスタンダー因子とする放射線誘発バイスタンダー効果の分子メカニズムの解明に取り組んでいる。日本放射線医学総合研究所(千葉市)、高エネルギー加速器研究機構(つくば市)、大型放射光施設 Spring-8(兵庫県佐用郡)及び若狭湾エネルギー研究センター(敦賀市)でもマイクロビーム放射線照射装置の開発が進められている。さらにHRS・IRR、放射線適応応答及び放射線誘発バイスタンダー効果の詳細なメカニズムが解明されていくことが期待される。

参考文献

- 1) M.C. Joiner, B. Marples, P. Lambin, et al.: Low-dose hypersensitivity: Current status and possible mechanisms, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **49**, 379-389 (2001)
- 2) M.C. Joiner, P. Lambin, E.P. Malaise, et al.: Hypersensitivity to very-low dose single radiation doses: Its relationship to the adaptive response and induced radioresistance, *Mutat. Res.*, **358**, 171-183 (1996)
- 3) G. Olivieri, J. Bodycote, and S. Wolff: Adaptive response of human lymphocytes to low concentrations of radioactive thymidine, *Science*, **223**, 594-597 (1984)
- 4) L. Cai, and S.Z. Liu: Induction of cytogenetic adaptive responses of somatic and germ cells in vivo and in vitro by low dose X-irradiation, *Int. J. Radiat. Biol.*, **58**, 187-194 (1990)
- 5) M. Yonezawa, J. Misonoh, and Y. Hosokawa: Two-types of X-ray-induced radio-resistance in mice: Presence of 4 dose ranges with distinct biological effects, *Mutat. Res.*, **358**, 237-24 (1996)
- 6) S. Wolff: The adaptive response in radiobiology: Evolving insights and implications, *Environ. Health Perspect.*, **108**, 277-283 (1998)
- 7) M.S. Sasaki: On the reaction kinetics of the radioadaptive response in cultured mouse cells, *Int. J. Radiat. Biol.*, **68**, 281-291 (1995)
- 8) A. Takahashi: Different inducibility of radiation- or heat-induced p53-dependent apoptosis after acute or chronic irradiation in human cultured squamous cell carcinoma cells, *Int. J. Radiat. Biol.*, **77**, 215-224 (2001)
- 9) H. Nagasawa, and J.B. Little: Induction of sister chromatid exchanges by extremely low doses of alpha-particles, *Cancer Res.*, **52**, 6394-639 (1992)
- 10) E.I. Azzam, S.M. de Toledo, and J.B. Little: Direct evidence for the participation of gap junction-mediated intercellular communication in the transmission of damage signals from alpha-particle irradiated to non-irradiated cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 473-478 (2001)
- 11) J. Albanese, and N. Dainiak: Ionizing radiation alters Fas antigen ligand at the cell surface and on exfoliated plasma membrane-derived vesicles: Implications for apoptosis and intercellular signaling, *Radiat. Res.*, **153**, 49-61 (2000)
- 12) C. Mothersill, and C.B. Seymour: Cell-cell contact during gamma irradiation is not required to induce a bystander effect in normal human keratinocytes: Evidence for release during irradiation of a signal controlling survival into medium, *Radiat. Res.*, **149**, 256-262 (1998)
- 13) B.E. Lehnert, and E.H. Goodwin: Extracellular factor(s) following exposure to alpha particles can cause sister chromatid exchanges in normal human cells, *Cancer Res.*, **57**, 2164-2171 (1997)
- 14) P.K. Narayanan, E.H. Goodwin, and B.E. Lehnert: Alpha particles initiate biological production of superoxide anions and hydrogen peroxide in human cells, *Cancer Res.*, **57**, 3963-3971 (1997)
- 15) M.H. Barcellos-Hoff, and A.L. Brooks: Extracellular signaling through the microenvironment: A hypoth-

- esis relating carcinogenesis, bystander effects, and genomic instability, *Radiat. Res.*, **156**, 618-627 (2001)
- 16) H. Matsumoto, S. Hayashi, M. Hatashita, et al.: Induction of radioresistance to accelerated carbon-ion beams in recipient cells by nitric oxide excreted from irradiated donor cells of human glioblastoma, *Int. J. Radiat. Biol.*, **76**, 1649-1657 (2000)
- 17) H. Matsumoto, S. Hayashi, M. Hatashita, et al.: Induction of radioresistance by a nitric oxide-mediated bystander effect, *Radiat. Res.*, **155**, 387-396 (2001)
- 18) C.L. Shao, M. Aoki, and Y. Furusawa: Medium-mediated bystander effects on HSG cells co-cultivated with cells irradiated by X-rays or a 290 MeV/u carbon beam, *J. Radiat. Res.*, **42**, 305-316 (2001)
- 19) R. Iyer, and B.E. Lehnert: Alpha-particle-induced increases in the radioresistance of normal human bystander cells, *Radiat. Res.*, **157**, 3-7 (2002)