

放射線誘導酸化ストレスと細胞の防御機構

秋山秋梅, 細木彩夏 (京都大学大学院 理学研究科)

Radiation induced oxidative stress and defense mechanisms

Qiu-Mei Zhang-Akiyama, Ayaka Hosoki

Graduate School of Science, Kyoto University, Kyoto 606-8502

E-Mail: qmzhang@kingyo.zool.kyoto-u.ac.jp

Abstract: Reactive oxygen species (ROS) are generated via radiolysis of water by exposure to ionizing radiation in cells. It has been demonstrated that ROS play a critical role in cellular responses and cell death following exposure to ionizing radiation. Excessive accumulation of ROS within cells results in oxidative stress that leads to oxidative damage to DNA, proteins and lipids. ROS are also continually generated as a consequence of aerobic metabolism. Endogenous antioxidant enzymes protect cells from damage induced by ROS. One of the primary families of antioxidant enzymes, superoxide dismutases (SODs), eliminate O_2^- through a dismutation reaction. Glutaredoxins (Grxs) are a small redox enzyme that use glutathione as a cofactor. In this study, we examined whether and how cellular sensitivity to ionizing radiation is modulated by the overexpression of mitochondrial SOD (SOD2) and Grx (Grx2a) in the cultured human cells. As the consequence of overexpression of SOD2 and Grx2a in HeLa cells, morphological alteration of mitochondria and levels of mitochondrial superoxide, DNA double-stranded breaks, protein oxidation and OXR1 expression were significantly suppressed. These results suggest that SOD2 and Grx2a antioxidant enzymes in mitochondria play an important role in various cellular responses to the ionizing radiation.

1. はじめに

宇宙環境においてはガンマー線、電子線だけでなく重粒子線、中性子線といった様々な種類の放射線が飛び交っている。このため、宇宙飛行士は地上に比べより多くの放射線に被爆する可能性が高い。長期宇宙滞在をする宇宙飛行士の健康管理を行う上で、宇宙放射線の人体への生物学的影響の研究はきわめて重要である。しかし、宇宙放射線の人体への影響を評価するデータはまだ十分ではない。これは宇宙空間が低線量放射線の被爆環境下であることが原因であると考えられる。低線量放射線の人体への生物学的影響は被爆後数年から数十年後に現れる晩発障害として現れる。そこで、ヒト培養細胞を用いて低線量放射線の影響を調べることで、低線量放射線の生物学的影響の知見を得、宇宙空間環境下での長期被爆に対する防御対策を講じることができると考える。

2. これまでに得られた知見

電離放射線による生物影響は細胞内の水と作用し、水の電離によって発生した活性酸素種 (ROS) によるものが大半を占める。このため、本研究では ROS による酸化ストレスに着目して研究を進めた。生じた ROS は細胞構成成分である DNA、脂質、タンパク質などを非特異的に酸化し、老化、発がん、その他多くの疾患の原因になるなど有害に働く。そこで生物は ROS の除去や損傷の修復といった防御機構を発達させてきた。この働きは抗

酸化と呼ばれ、生体内で合成される酵素群、及びビタミン類などの低分子化合物が担っている。これら抗酸化酵素が個体の恒常性維持に深く関わり、きわめて重要であることは知られているが、生体内での抗酸化酵素の量的変化が酸化ストレス応答にどのような影響を及ぼすのかを実験的に示した例は少ない。そこで抗酸化酵素過剰発現ヒト細胞株を樹立し、酸化ストレス応答の変化を解析した。まず、本研究では、ROS を直接的に消去する抗酸化酵素 superoxide dismutase (SOD) と間接的に ROS を消去する抗酸化酵素 glutaredoxin (Grx) に着目し、これら抗酸化酵素の安定的過剰発現細胞株を樹立した。

また ROS は前述のようにガンマー線のような外的要因によって生じる他に、酸素代謝の副産物としても生じる。このためミトコンドリアに局在する抗酸化酵素の重要性が強く示唆される。このため、まずはミトコンドリア局在型抗酸化酵素である SOD2、Grx2a に焦点をあてて解析を行った。

その結果、SOD2、Grx2a 過剰発現細胞において、ガンマー線照射後長期に渡って、① ミトコンドリア内の ROS 量だけでなく、細胞質、核を含む細胞全体での ROS 量、② ミトコンドリアの機能不全を示す形態変化、③ DNA の double-strand breaks (DSBs) の指標の一つである γ H2AX 量、④ 新規の酸化ストレス防御タンパク質 OXR1 の量などが抑制された。

このように、ミトコンドリアで高発現された抗酸化酵素が、ミトコンドリアでの放射線障害を防御するだけでなく、ゲノ

ム DNA の損傷を抑制したことから、放射線によって引き起こされるミトコンドリアの攪乱によって二次的に発生した酸化ストレスが細胞質、核にまで及び、その結果、細胞に重篤な障害をもたらすことを示した。

3. 今後の展望

これまでに、宇宙空間における低線量放射線被爆の影響と防護対策を構築するために、ガンマー線を用いて低線量放射線照射研究を行った。そしてさらなる解析を行うことで、宇宙放射線の人体への生物学的影響への知見を得る。具体的には以下に示す通りである。

ヒト培養細胞に ① 低線量、低線量率放射線を照射した後、高線量放射線を照射することで酸化ストレスが低減されるのか、② 低線量、低線量率放射線を分割照射した場合、酸化ストレス応答に変化がみられるのか、③ 低線量放射線照射処理を行った場合と①、②のような操作を行った際の遺伝子発現やタンパク質の相互作用に違いはみられるのか、といった観点からも解析することで、広く放射線防護の指標を探る。また、この研究の成果から長期宇宙滞在をする宇宙飛行士の健康管理に活用し、将来の有人宇宙活動に備え宇宙放射線の長期被爆への対策を講じる大きな足掛かりになると期待される。

参考文献

- 1) Hosoki, A., S-I. Yonekura, Q-L. Zhao, Z-L. Wei, I. Takasaki, Y. Tabuchi, L-L. Wang, S. Hasuike, T. Nomura, A. Tachibana, K. Hashiguchi, S. Yonei, T. Kondo and Q-M. Zhang-Akiyama (2012) Mitochondria-targeted superoxide dismutase (SOD2) regulates radiation resistance and radiation stress response in HeLa cells. *Journal of Radiation Research* 53, 58-71