

アルファ粒子照射されたHeLa細胞の分裂遅延

長, 哲二
九州大学医療技術短期大学部診療放射線技術学科

<https://doi.org/10.15017/173>

出版情報：九州大学医療技術短期大学部紀要. 15, pp.1-5, 1988-03-28. 九州大学医療技術短期大学部
バージョン：
権利関係：

アルファ粒子照射された HeLa 細胞の分裂遅延

長 哲 二*

Division Delay in Alpha-particle Irradiated HeLa Cells

Cho Tetsuji

まえがき

高 LET 放射線であるアルファ粒子を照射された HeLa 細胞では、一回も分裂することなく死んでしまう間期死が高い確率で起こり、生残率曲線から、回復がないことが知られている。⁽¹⁾ 一方、低 LET の放射線である X 線では間期死は少なく、照射後何度か細胞分裂を繰返した後に死ぬという細胞が多くみられ、照射された世代に分裂遅延が起きることが報告されている。⁽²⁾ アルファ粒子でも X 線と同じように分裂遅延がおき、照射前の世代と照射された世代の平均の世代時間の比は両者の間では差が認められないが、細胞周期依存性も X 線照射の場合と同じかどうかは興味ある問題である。アルファ粒子照射、X 線照射された HeLa 細胞について分裂遅延の細胞周期依存性を time-lapse cinematography によって測定したのでその結果を報告する。

材料および方法

照射方法、分裂遅延の観察

X 線、アルファ粒子照射された HeLa 細胞を 16mm 映画で連続撮影し、その結果得られた分裂系図によって照射された世代の細胞の分裂遅延を求めた。使用した X 線は 200kvp、25mA で付

加フィルターは 0.3Cu+1.0Al を用いた。線量は 4Gy である。アルファ粒子の線源は ^{241}Am を用いた。アルファ粒子のエネルギーは 3.7MeV で、粒子フルエンスは $4.1\alpha/100\mu\text{m}^2$ である。この場合の生残率はそれぞれ 16%、14% であった。

アルファ粒子の照射方法及び培養条件は前⁽⁴⁾の報告と同じである。

細胞周期の測定

放射線照射された細胞の分裂遅延の細胞周期依存性を知るには先ず細胞周期の決定が必要である。ここでは Hydroxyurea (HU) が DNA 合成阻害剤であることを利用し、HU 処理前後の細胞を映画法で観察し、死んだ細胞または世代時間が延長したものについて分裂後、HU 処理までの時間を測定することにより G₁、S 期の時間を決定した。

細胞は HU 処理前に二日間培養し、HU 1mM の培地で 4 時間培養後正常な培地と交換した。

結 果

細胞周期

分裂系図から求めた細胞の分裂後 HU 処理までの時間と細胞の生残率との関係を図 1 に示す。ここでは HU 処理された世代の世代時間 (T) が

$$T \geq T_0 + 4\sigma$$

の細胞は HU 処理の効果があつたものとして死細胞とした。ここで T_0 は HU 処理前の細胞の平均の世代時間、 σ はその標準偏差である。

*九州大学医療技術短期大学部

診療放射線技術学科

アルファ粒子照射された HeLa 細胞の分裂遅延

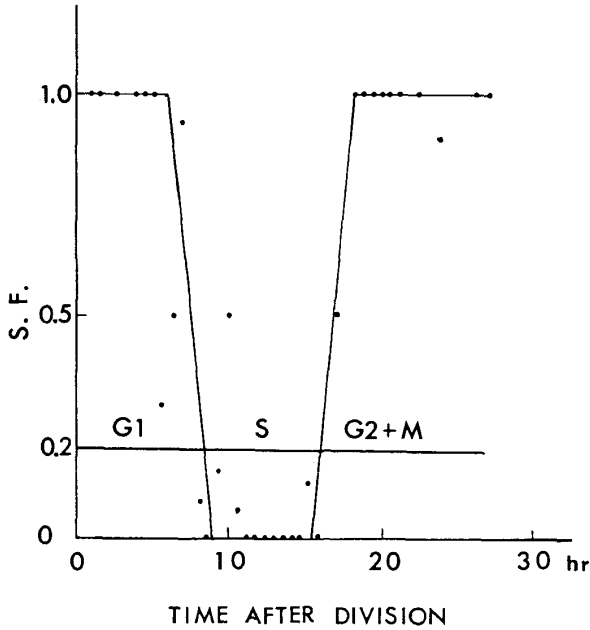


図1：HU処理された HeLa 細胞の分裂から HU処理までの時間と生残率の関係

図1で生残率が20%の線と生残率曲線が交わった点でG1、S期の時間を決定すると、それぞれG1=8.5hr S=7.4hrとなる。この二つ値とHU処理の世代時間から、G2+M=7.8hrとなった。

分裂遅延

アルファ粒子、X線照射された HeLa 細胞の照射前の世代と照射された世代の世代時間の分布を図2、図3に示す。アルファ粒子照射

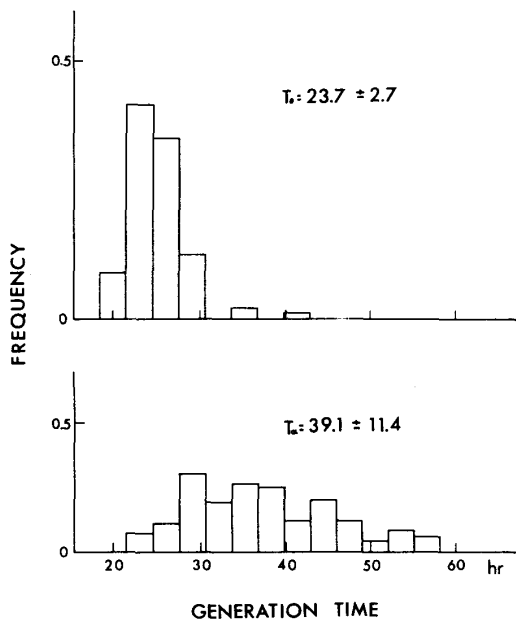


図2：アルファ粒子照射された HeLa 細胞の世代時間延長

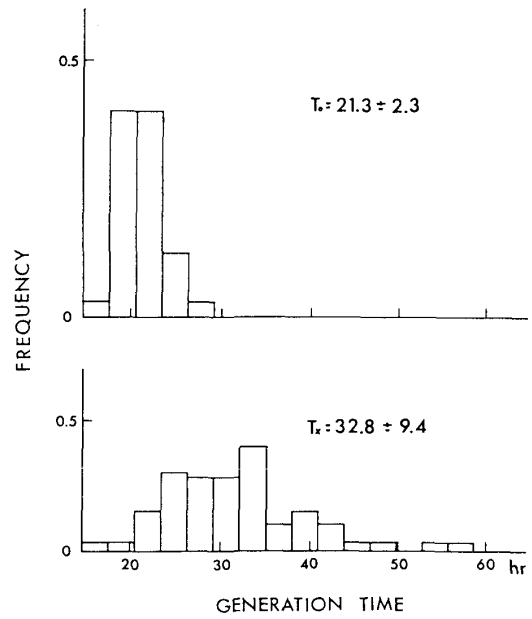


図3：X線照射された HeLa 細胞の世代時間延長

された細胞では、照射前の世代時間が $T_0 = 23.7 \pm 2.7$ hr 照射された世代では $T_\alpha = 39.1 \pm 11.4$ hr となった。同じようにX線照射された細胞では、 $T_0 = 21.3 \pm 2.3$ hr、 $T_x = 32.8 \pm 9.8$ hr となり分裂遅延時間はそれぞれ $13 T_\alpha = 15.4 \pm 11.7$ hr、 $13 T_x = 11.5 \pm 9.7$ hr であった。

これら照射された細胞ひとつひとつについて、分裂から照射までの時間とその世代の世代時間との関係を図4、図5に示す。平均の分裂遅延

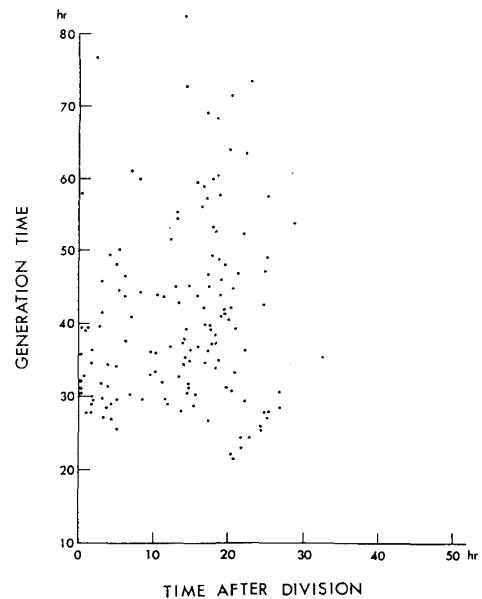


図4：アルファ粒子照射された HeLa 細胞一個一個の分裂から照射までの時間とその世代時間との関係

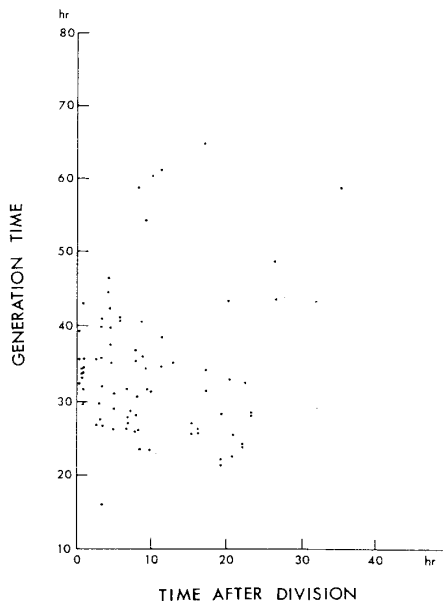


図5：X線照射されたHeLa細胞一個一個の分裂から照射までの時間とその世代時間の関係

時間はアルファ粒子とX線とも大差はないが、アルファ粒子照射された細胞の世代時間はX線照射されたものと比較して大きく変動していることが分かる。またlate G 2の細胞では分裂遅延が起こらないか、起こってもその時間が短い細胞が他の分裂周期に比較して多くみられる。

考 察

細胞周期

図1から周期を決定するとき生残率が20%の点を利用したが、これはHU 1 mMで処理するとき処理された細胞の生残率と分裂遅延に関する報告を参考にした。この方法は一般に行われている⁽⁵⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾ [³H] thymidineの取込みをオートラジオグラフィで観察するのとは異なり、RI使用施設の必要もなく、また長い乳剤の露光のための時間(7日程度)も必要とせず細胞の世代時間の3倍程度の時間があればよい。今回は処理時間を4時間としたが、より高濃度のHUで短時間処理すればもっと正確にS期とG1期の境界を決定できるだろう。

分裂遅延

図4、図5を比較してアルファ粒子照射された細胞の世代時間はX線照射されたものと比較して大きく変動し、世代時間も長いものが多

くみられる。一般に分裂遅延と線量とは比例関係が成り立ち、線量を大きくすると遅延時間も長くなることが知られている。

細胞照射したアルファ粒子の平均の粒子フルエンスは4.1/10 μm²であり、当然その値は統計的に変動している。Poissonの分布式で100 μm²当り5個以上のアルファ粒子が入射する確率は0.31となり、このような細胞は平均よりも大きな線量を吸収したことになる。また、当然これとは逆に吸収線量が小さい細胞も大きな確率で存在する。この細胞当りの吸収エネルギーの変動が大きな分裂遅延時間の変動の一つの原因と考えられる。また細胞中に分裂遅延の起因となる標的が複数個あり、この標的に当たるアルファ粒子の数の変動が分裂遅延の大きな変動の原因だとすれば複数個の標的の存在を示唆することになる。

図4、図5の横軸を一定時間間隔で分割しその区間内の細胞の平均の世代時間の変化を図6に示す。図6からX線照射については特に感受性が高い周期は無いようである。

アルファ粒子にかんしては分裂後late G 2までは時間とともに世代時間も長くなる傾向がみられるが、これはアルファ線源からみた照射細胞の核の断面積が分裂後の時間とともに大

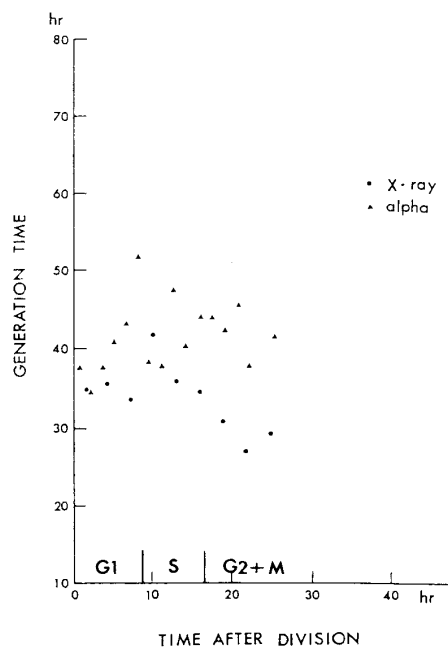


図6：放射線照射されたHeLa細胞の分裂から照射までの時間とその世代時間の関係

きくなるため、核当りに入射するアルファ粒子の数が相対的に大きくなるのがひとつの原因と考えられる。また G1/S の境界では分裂遅延が大きくなっている。それで図4の細胞のなかで照射後二世帯までに死細胞があらわれなかった細胞系列のものを選びだして、それらの細胞の分裂後照射までの時間とその世代時間の関係をみると図7のようになる。図7と図4を

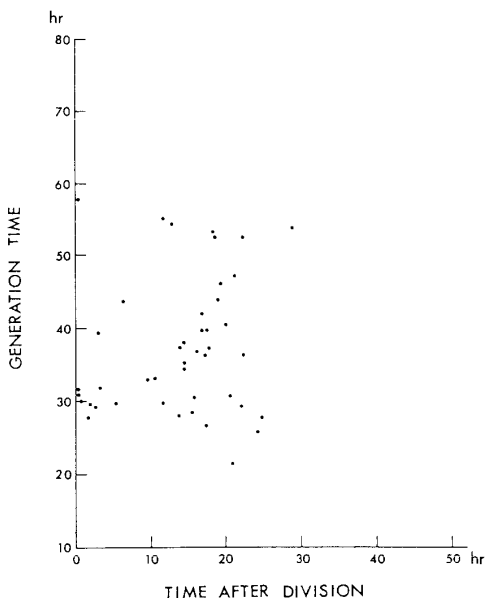


図7：アルファ粒子照射された HeLa 細胞で照射後二世帯の間細胞が発現しなかった細胞の分裂から照射までの時間とその世代時間の関係

比較すると G1/S の近傍の細胞の数が少ない。(照射された細胞の21%、平均は30%) ことが分かる。これは G1/S 近傍で照射された細胞の大きな分裂遅延は回復することなく照射後何らかの損傷が早期のうちに発現し、細胞死に導かれる可能性がおおきいことを示している。

この結果は H. Sasaki⁽⁸⁾の報告とは異なっている。これは照射アルファ粒子のエネルギーが一つの原因と考えられる。Sasaki は3.97MeV であり、この報告は3.6MeVである。このエネルギーの違いは水中で3ミクロンの飛程の差を生じる。分裂遅延の標的は核膜であると言う A. Cole⁽⁹⁾の説からすると、3ミクロンの飛程の違いは核膜近傍にアルファ粒子が与えるエネルギーに違いを生じ、3MeV程度のエネルギー範囲ではエネルギーが低いほど大きなエネルギーを与えることになる。L929細胞を3.4MeVのアル

ファ粒子で照射した C. Luke-Huhle⁽¹⁰⁾は G1/S が分裂遅延にたいして高感度であると報告している。

X線照射とは異なり、高LET放射線の細胞照射においては標的の体積が非常に小さい場合、照射粒子の小さなエネルギーの違いがその結果に影響を及ぼすことが考えられるので、その照射方法には細心の注意が必要である。

ま と め

- 1) 細胞のHU処理と time-lapse cinemicrography を併用する新しい方法で細胞周期を決定した。
- 2) アルファ照射された細胞の世代時間のばらつきがX線照射された細胞よりも大きいことから、分裂遅延の標的が複数個であると考えられる。
- 3) アルファ照射された細胞の早期損傷に対して G1/S は高感受性である。

参 考 文 献

- 1) Cho, T. : Time Lapse Cinemicrographic Studies of Alpha-particle Irradiated HeLa Cells. J. Radiat. Res. 16:55, 1975
- 2) Sasaki, H. : Time-Lapse Photographic Studies of X-Irradiated HeLa Cells. J. Radiat. Res. 14:248-257, 1973
- 3) 長 哲二、笹井淳子. : α 線照射された HeLa 細胞の分裂遅延、放射線生物研究、12:59, 1977
- 4) 長 哲二、培養細胞の低圧(40Torr)下でのアルファ粒子照射、九大医短部紀要、13:1-5, 1986
- 5) W.K.Sinclair. : Hydroxyurea: Differential Lethal Effects on Cultured Mammalian Cells During the Cell Cycle, SCIENCE, 150:1729-1731, 1965
- 6) W.K.Sinclair, : Hydroxyurea : Effects on Chinese Hamster Cells Grown in Culture, Cancer, Res. 27 Part 1 :297-308, 1967

- 7) B.F.Kimler and D.B.Leeper, : Effect of Hydroxyurea on Radiation-Induced Division Delay in CHO Cells, Rad. Res. 72:265-276, 1977
- 8) H.Sasaki, : Cell killing and Division Delay in Asynchronous and Synchronized HeLa Cells Irradiated with Alpha particles or X Rays, Rad. Res. 99:311-323, 1984
- 9) A.Cole, : Private communication
- 10) C.Lucke-Huhle, L.Hieber and H.Beck-Bornohld, : Cell Cycle Dependent G2 Delay and killing of L929 Cells after Exposure to ^{241}Am α particles, Rad. Res. 100:576-584, 1984