

ひとつの細胞をエックス線ビームで射る

- 単一細胞照射用X線マイクロビームシステムの開発と応用 -

佐藤 文 信^{*}, 加藤 裕 史^{**}, 飯田 敏 行^{***}

X-ray microbeam system for single cell irradiation

Key Words : X-ray microbeam, Ionizing radiation, Single cell

研究ノート

1. はじめに

地球上の誰もが日常の生活環境下において、宇宙線や大地からの自然放射線によって曝されている。その量は、人体の健康を害すると考えられる基準に対しては、わずかに過ぎない。¹⁾しかし、細胞単位でその影響を考えれば、いずれかの細胞には放射線の影響で損傷が生じて、細胞自身によって修復されるものや、細胞死、突然変異が誘発されるものが存在している。では、それら損傷を受けた少数の細胞が全体の集団細胞に対して、どの程度の影響を及

ぼすのかについては不明な点が多く、難しい課題となっている。

そこで、個々の細胞の放射線の影響について調べる手法のひとつに、イオンビーム加速器や放射光施設を用いたマイクロビーム照射技術がある。マイクロビームは、空間的に制御された放射線（粒子線）を、特定の細胞に正確にヒットさせて、その後に細胞で起こる変化や近接する非照射細胞の様子を観察することが出来る。最近では、放射線照射された細胞から何らかの作用により、近接した非照射細胞に照射細胞と同様の細胞死や突然変異誘発などの放射線応答を示す現象（バイスタンダー効果）などについて調べられている。

我々の研究室では、小型の単一細胞照射用X線マイクロビームシステムを開発し、細胞の照射実験を進めている。ここでは、開発した実験システムを中心にその概要を紹介する。

2. X線マイクロビームシステム

国内では日本原子力研究開発機構、高エネルギー加速器機構、国外ではコロンビア大学、Gray Cancer 研究所などでイオンビーム加速器や放射光を利用した細胞照射用マイクロビームラインが稼働している。それらの照射実験施設では、粒子のエネルギーや強度、空間分解能などにおいて優れているため、短時間に多数の細胞を正確に照射することが可能である。ただし、大型の施設を利用する場合、実験条件や稼働時間が限られるようで、汎用的な利用は難しいようである。

我々の研究室では、汎用性の高い小型の細胞照射用のX線マイクロビームシステム（写真1）を開発した。²⁾図1にはX線マイクロビームシステムの概要を示している。X線マイクロビームは、マイクロフォーカスX線管とX線導管によって生成さ

* Fuminobu SATO

1971年4月生
大阪大学・大学院工学研究科・電子情報エネルギー工学専攻博士後期課程修了(1999年)
現在、大阪大学・大学院工学研究科・電気電子情報工学専攻、助教、博士(工学)量子計測
TEL : 06-6879-7909
FAX : 06-6879-7363
E-mail : fsato@eei.eng.osaka-u.ac.jp



** Yushi KATO

1961年9月生
大阪大学・大学院工学研究科・電磁エネルギー工学専攻博士後期課程修了(1990年)
現在、同研究科電気電子情報工学専攻、准教授、プラズマ科学、ビーム工学、工学博士
TEL : 06-6879-7909
FAX : 06-6879-7363
E-mail : kato@eei.eng.osaka-u.ac.jp



*** Toshiyuki IIDA

1949年5月生
大阪大学・大学院工学研究科・原子力工学専攻博士後期課程修了(1978年)
現在、同研究科電気電子情報工学専攻、教授、量子計測、放射線工学、工学博士
TEL : 06-6879-7909
FAX : 06-6879-7363
E-mail : iida@eei.eng.osaka-u.ac.jp



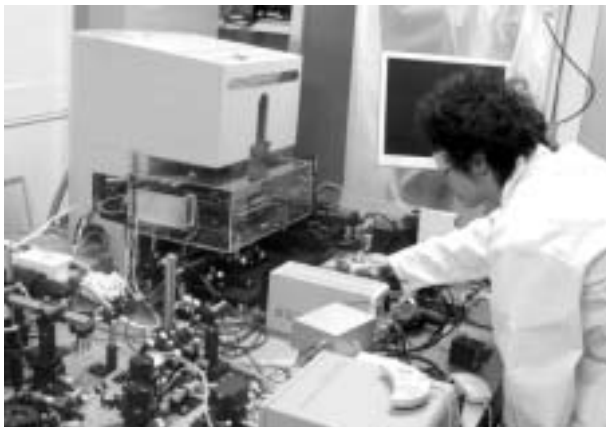


写真1 X線マイクロビーム照射実験の様子

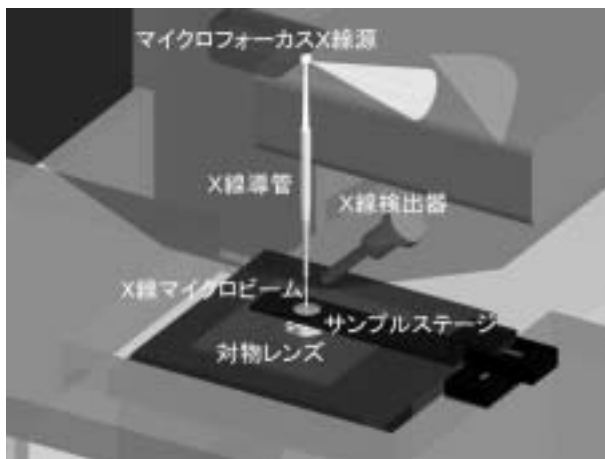


図1 X線マイクロビームシステムの概要

れている。マイクロフォーカスX線管から発生したX線は導管の内壁に対して微小角で入射したものは全反射する性質を利用し、X線を内壁で繰り返し散乱させて、導管から取り出す。ターゲット位置でのX線の集光サイズは約 $10\mu\text{m}$ である。ターゲット細胞の培養シャーレを精密自動ステージに取り付けて、X線導管と反対側に取り付けられた対物レンズで細胞を観測し、X線マイクロビームを特定の細胞に照射する。また、対物レンズからレーザー光を導入することで、光ピンセットで細胞位置を固定し、培養液中の浮遊細胞を照射することも可能である。細胞に照射される線量率は最大 0.1Gy/s で、細胞の低線量放射線影響を調べるためには適切な強度である。

3. マイクロビーム照射用細胞チップ

単一細胞照射では、照射細胞の変化を観測するだけでなく、その細胞に近接する細胞に影響があるの

が調べることも重要である。そのため、照射細胞と近接する細胞との距離やその個数を変数とした実験条件が望まれる。しかし、通常の方法で培養すると、サンプル細胞の位置はランダムとなるので、たまたま条件の良いところを見つけ出すための労力に費やしていた。そこで、培養シャーレの内底に微細加工を施した細胞チップを製作して、マイクロビーム照射実験に適したサンプルの製作に取り組んでいる。

写真2は、培養シャーレ内に製作されたマイクロピットの様子である。マイクロピット製作はフォトリソグラフィを応用し、フォトレジストで形成されている。また、細胞を培養するために滅菌処理や培養条件に適したコーティング処理も施されている。写真2ではマイクロピット内に培養神経細胞が培養されている様子で、マイクロピットの壁の高さは $30\mu\text{m}$ 程度となっている。培養神経細胞は細胞培地に神経成長因子(NGF)を投与することによって、神経突起が成長し、マイクロピット内の壁に沿って、隣り合う細胞と結合している。

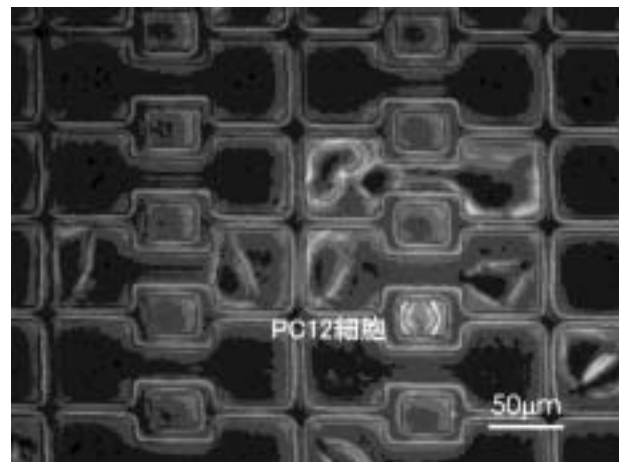


写真2 マイクロピット内で培養された細胞の様子

4. 培養神経細胞のX線マイクロビーム照射

ここでは、培養神経細胞PC12のX線マイクロビーム照射実験について紹介する。照射実験用のPC12サンプルは、ラジオフォトルミネセンスガラスプレート³⁾上に培養される。ラジオフォトルミネセンス・ガラスプレートは、放射線線量計に用いられている材料で、ターゲット細胞を照射した後、X線マイクロビーム照射スポットを蛍光顕微鏡で観測することができる。フォトレジストで形成されたマイクロチャンネル内に隣接する2個のPC12に、

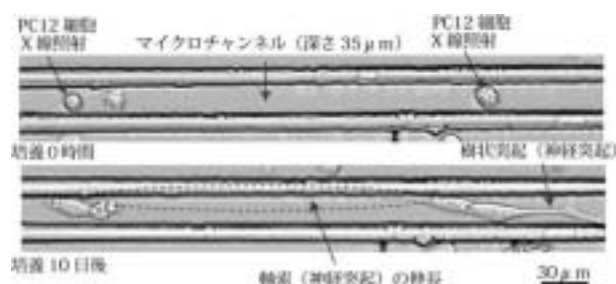


写真3 X線マイクロビーム照射によって誘導分化したPC12細胞の様子

それぞれ 2 Gy 程度の X 線を照射する。照射後、PC12 サンプルは、CO₂ インキュベータ内で培養される。

DNA 二重鎖切断損傷に関係したヒストンの翻訳後修飾として、ヒストン H2AX のリン酸化 (γ -H2AX) が知られている。核内の γ -H2A を蛍光抗体を用いて顕微鏡観測すると照射直後では、X 線照射された細胞核にフォーカスが最も生成されているが、24 時間後には 10 % 以下に減少していることがわかった。

また、数日後の観測では、神経細胞の一部は細胞死せずに分化し、軸索 (神経突起) を伸長するものが現れることがわかった。ただし、通常の NGF が投与された分化誘導と異なり、放射線照射によって分化した細胞は扁平したものが多くことが特徴であ

る。現在、放射線損傷と神経分化の関係について調べている。

5. おわりに

単一細胞照射用の X 線マイクロビームシステムについて紹介した。生命体は自然放射線に常に曝されている。また、医療分野では放射線診断や治療として有効に利用されている。しかし、生命体の放射線影響についてはまだ不明な点が多く、我々の研究がそれらについて少しでも貢献することを望む。

参考文献

- [1] 飯田敏行 監修; “先進放射線利用”, 大阪大学出版会 (2005).
- [2] T.Kuchimaru, F.Sato, Y.Higashino, K.Shimizu, Y.Kato and T.Iida; “Micro Dosimetric Characteristics of Micro X-ray Beam for Single Cell Irradiation”, IEEE Trans. Nucl. Sci., Vol. 53, pp.1363-1366 (2006).
- [3] F.Sato, T.Kuchimaru, T.Ikeda, K.Shimizu, Y.Kato, T.Yamamoto and T.Iida; “X-ray micro beam measurement with radiophoto luminescent glass plate for single cell irradiation”, to be published in Radiat. Meas., (2008).

