

宇宙環境の人体影響評価と防護に関する研究

医薬基盤研究所: 野村 大成、梁 治子、足立 成基、時田 偉子、堀家 なな緒、畑中 英子、
菊谷 理絵

阪大医: 中島 裕夫、本行 忠志、

近大理工/原研: 藤川 和男、伊藤 哲夫、

三菱重工: 落合 俊昌、行徳 淳一郎、

アミノアップ化学: 若命 浩二

Evaluation of Human Risk in Space Environment and Its Protection

Taisei Nomura, Haruko Ryo, Shigeki Adachi, Yoriko Tokita, Nanao Horike, Eiko Hatanaka, Rie Kikuya, National Institute of Biomedical Innovation, Ibaraki, Osaka 567-0085

Hiroo Nakajima, Tadashi Hongyo, Graduate School of Medicine, Osaka University, Suita, Osaka 565-0871,

Kazuo Fujikawa, Tetsuo Itoh, Atomic Energy Research Institute, Kinki University, Higashiosaka, Osaka 577-8502

Toshimasa Ochiai, Junichiro Gyotoku, Mitsubishi Heavy Industry, Kobe, Hyogo 652-8585

Kouji Wakame, Amino up Chemical, Sapporo, Hokkaido 004-0839

E-Mail: n5nomura@nibio.go.jp

Abstract: To study the human risk of cosmic environment (including neutrons) in the flying body and space base, (1) Morphological and functional effects (including changes in gene expression) of fission neutrons on human thyroid tissues maintained in super-SCID (severe combined immunodeficient) mice, (2) Microsatellite mutations and leukemia in the offspring of mice in the space environment, and (3) Protection of radiation-induced defects by food and supplement, and effects of space environment (including micro-gravity) on human diseases are carried out by using specific mouse models. The first two projects are ready to be carried out in the space environment, although these were cancelled in Japan (and also in USA and EU). As for Project 3, we demonstrated protection of leukemia and congenital anomalies by AHCC (Active Hexose Correlated Compound) treatment, and strong effects of micro-gravity (μG) on behavior and gene expression by parabolic flight were shown with panic mouse model.

Key words: Space Environment, Cosmic Radiations, Human Risk, Super-SCID-Human Mice, Transgenerational Effects, Parabolic Flight, Cancer Prevention, Behavior, Changes in Gene Expression

人類は、将来、宇宙生活の必要性に迫られることが考えられ、最先端かつ安全な宇宙飛行技術の開発とともに、人類が宇宙生活を行うにあたり不可欠なのが、宇宙環境および宇宙放射線（宇宙基地、飛翔体内のヒト被曝の主たる放射線である中性子線）による人体影響、即ち、重力変化等の生体影響や忘れた頃に頭をもたげてくるがんや生活習慣病の防御である。宇宙環境（含、宇宙放射線）による人体影響の評価と防護研究のため、「宇宙環境の人体影響評価と防護に関する研究」研究チームでは、20年間にわたり、

1) SCIDプロジェクト: ヒト臓器・組織機能を数年にわたり継代維持できる超重度複合免疫不全マウス (super-SCID マウス) を用いたヒト組織の形態、機能、遺伝子変異、遺伝子発現への影響研究、

2) 継世代プロジェクト: 宇宙放射線等宇宙環境の子孫におよぼす影響、特に、がん、突然変異、発生異常の検出、

3) 宇宙創薬プロジェクト: がん等各種生活習慣病、情動行動異常等自然発症モデルマウスや安全性高感度検出モデルマウスを用いた宇宙環境（含、宇宙放射線）に対する生体反応と防護に関する研究を行っている。

これら研究は、我が国独自の発見、開発によるものであり、人類が宇宙環境利用、あるいは、宇宙環境で生活するためには避けて通れない研究課題であり、宇宙生活や宇宙よりの帰還後を想定した基盤研究を行ってきた。現在、哺乳動物個体の打ち上げ実験は中断しているが、いつでも宇宙実験が出来るよう常備体制を維持している。

上記3本柱の内、3番目の疾患モデルマウスを用いた宇宙医学(創薬)研究に関しては、食品やサプリメントによる放射線誘発がん等の発生の防護に関する研究など、地上での防護実験も可能であり、重力変化に対する生体反応に関する研究においては、パラボリックフライトでも一部目的が達せられる。そのため、医薬基盤研究所の野村プロジェクト特有のモデルマウスを用いパラボリックフライト(μ G)による行動異常と遺伝子発現の変化に関する共同研究を行っている。

2010年度の成果を紹介する。

1. ヒト臓器・組織置換マウス等を用いた宇宙環境の人体影響研究(SCIDプロジェクト)

宇宙環境、宇宙放射線の人体影響を想定した地上実験を計画するにあたり用意したヒト甲状腺組織置換超重度複合免疫不全マウス(super-SCIDマウス)は、環境変化の人体影響を少数で高感度に検出できる日本発、世界初の人体影響評価システムである。通常の宇宙実験はヒトが動物、細胞等を宇宙に運ぶが、本実験では、マウスがヒト組織をおんぶして運ぶことになる。平成22年度には以下の成果が得られている。

1) ヒト甲状腺組織に対する中性子線の形態・機能への影響

宇宙放射線類似線源(近畿大学研究用原子炉UTR-KINKI中性子線0.2 Gy/hと γ 線0.2 Gy/h)による、ヒト甲状腺組織の濾胞の消失と壊死、機能低下(ヒト甲状腺ホルモンの分泌能低下、RBE値6.5)が示された(Mutat. Res., 2010, Space Utiliz. Res., 2010)。

2) 遺伝子発現の変化

中性子線照射を受けた甲状腺組織において4倍以上の遺伝子発現の変化を示す遺伝子数が線量依存的に増加した(RBE: 4.2)(Fig. 1)。

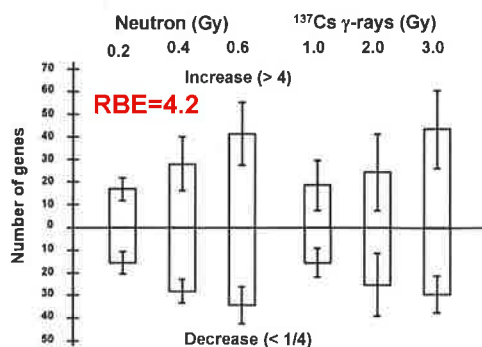


Fig. 1. Dose-dependent changes in gene expression in the transplanted human thyroid tissues after neutron and γ -ray exposures (Mutat Res, 2010).

しかも、照射を受けた全てのヒト甲状腺組織において、4倍以上の遺伝子発現の変化を示す特定の遺伝子14個を発見した(ストレス、損傷、アポトーシス及び転写に関与する遺伝子)(Mutat Res, 2010)(Table 1)。

14 Genes Responding to Radiations

C7orf68	+chromosome 7 open reading frame 68
SERPINE1	+serpin peptidase inhibitor, clade E (nexin)
ADM	+adrenomedullin
ENO2	+enolase 2
ANGPTL4	+angiopoietin-like 4
PLIN2	+perilipin 2
DIO1	- deiodinase, iodothyronine
COL9A3	- collagen, type IX
TFF3	- trefoil factor
HK2	+hexokinase 2
BNIP3	+BCL2/adenovirus E1B 19kDa interacting protein
BHLHE40	+basic helix-loop-helix family
CEBPD	+CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP)
SEMA3G	- sema domain, immunoglobulin domain

Stress and Injury; 8 genes, Apoptosis; 3 genes, Translation; 2 genes, , , ,

Table 1. 14 Genes showing more than 4-fold changes in gene expression in all the thyroid tissues exposed to fission neutrons and γ -rays. (Mutat Res, 2010)

3) ヒト臓器組織置換 Super-SCID マウスを維持し、宇宙実験にいつでも対応できるようにしている。

2. 宇宙環境の次世代に及ぼす影響(継世代プロジェクト)

宇宙での長期滞在計画で考慮しなければならないのは宇宙環境の子孫に及ぼす影響である。遺伝的影響(継世代影響)は、40年間続けてきた野村のライフワークである。放射線や化学物質が親マウスに作用すると、次世代に突然変異だけでなく、ヒトによくみられるがん、形態異常、生活習慣病も発生する。

1) 原子炉放射線(中性子線0.2 Gy/h、 γ 線0.2 Gy/h)の精原細胞期照射による線量依存性のマイクロサテライト突然変異の誘発、白血病の有意な増加が認められた(Fig. 2)。

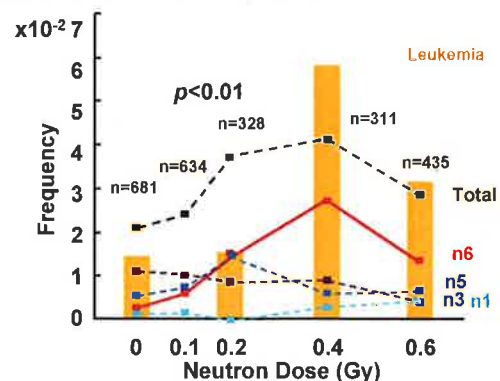


Fig. 2. Microsatellite mutation and leukemia in the progeny of N5 mice exposed to fission neutron (in preparation).

近大原子炉放射線 (0.1 Gy 中性子線) を精原細胞期照射した N5 ♂マウスの F₁ に生後 6 週より 0.05 % フェノバルビタールを 12 ヶ月まで経口投与したところ、へパトーマの高騰が認められた (♀マウスで約 9 倍、♂マウスで約 2 倍; 中間結果)。

3) 本計画は、少数 (5~10 匹) の N5 マウス雄を宇宙に上げ、帰還後被曝雄マウスと正常雌マウスを交配することにより、数百~数千匹の F₁ マウスを得ることが出来、発がん、突然変異等を検出することが可能なことを示しており、何時でも宇宙実験を実施できるよう準備できている。

3. 疾患モデルマウスを用いた研究 (宇宙創薬プロジェクト)

1) 放射線誘発障害 (がん、発生異常等) の防護に関する研究

放射線誘発がん等に対する食品やサプリメントによる発生の防護に関する研究を行った。

(1) 放射線誘発高白血病モデルマウスに ¹³⁷Cs ガンマ線を照射し、2% AHCC (Active Hexose Correlated Compound: 担子菌菌糸体培養抽出物) 水溶液を連続経口投与することにより、白血病発生の防護のための地上研究を行い、有意な抑制効果を確認した (Figs. 3, 4, Table 2)。

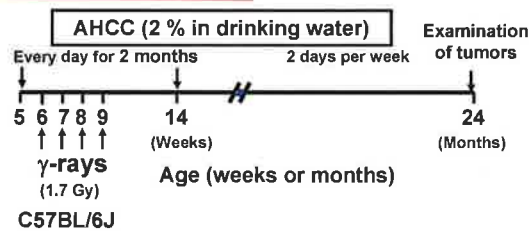


Fig. 3. Scheme of experimental procedures of AHCC treatment to C57BL/6J mice exposed to γ -rays.

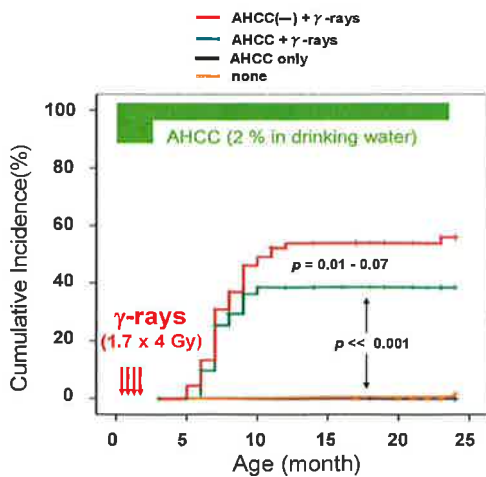


Fig. 4. Suppressive effects of AHCC on incidence of leukemia after ¹³⁷Cs γ -ray exposure (1.7 Gy x 4).

AHCC in Drinking water	γ -rays (Dose)	No. of mice	TBA (%)	Leukemia (%)
2 %	1.7 Gy x 4	54	29 (53.7)*	19 (35.2)*
0 %	1.7 Gy x 4	68	49 (72.1)	37 (54.4)
0 %	none	71	17 (23.9)	0 (0.0)
2 %	none	20	3 (15.0)	0 (0.0)

*1.7 Gy of ¹³⁷Cs γ -rays were given 4 times at 6, 7, 8 and 9 weeks after birth.
*2% of AHCC were given orally at 5 weeks after birth for 2 months and then 2 days per week until the end of experiment (24 months)

* $P < 0.05$ by χ^2 test

Table 2. Reduction of radiation-induced tumors and leukemia by AHCC in C57BL/6J mice

(2) 重力変化や放射線・化学物質により発生異常が誘発されることは哺乳動物においても良く知られている。妊娠マウスにガンマ線を照射することにより誘発される発生異常も、Pyran、BCG 等マクロファージ活性化物質同様に (J Exp Med, 1990)、AHCC の前投与により協力的に抑制されることを確認した。

2) 重力変化による行動異常と遺伝子発現の変化

重力等宇宙環境の変化については、かなりの部分がパラボリックフライト等で代用できる。2009 年 12 月 17 日に、三菱重工との共同研究のひとつとして、モデルマウスの中から「パニックになりやすいマウス BH-4」を選び、パラボリックフライト (μ G) 実験を行った。時田偉子、行徳淳一郎が搭乗した。今回のパラボリックフライトでは、対照としてもっともおとなしいマウス BH-8 を選んだ。基礎実験では、BH-4 マウスは尾を小さなクリップで挟むと、慌てふためいて噛み切るのに対し、BH-8 マウスは平気である。両系統のマウスを 1 匹ずつケージに入れ、飛行中ビデオ撮影を行った。また、パラボリックフライト直前と直後にマウス脳等臓器を採取し、マイクロアレイを用い、遺伝子発現の 2 系統間の差、同一系統での微小重力による差を解析した (Fig. 5)。

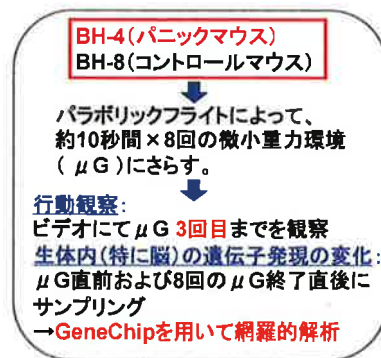


Fig. 5. Experimental procedures.

- (1) パラボリックフライトにより、以下に示すごとく、行動の変化が認められた。
- (i) すくみ (不安指標) : ケージ壁際へのすくみはBH-4 マウスに多い。その時間 (約 10 倍) と回数 (約 3 倍) は、「パニックになりやすいマウス系統」の方が圧倒的に多く、大きな差がでた。
- (ii) あるきまわる・うろたえる (パニックの指標) : μG 終了直後、距離・時間と共にBH-4 マウスに多い。BH-8 は μG の回数を重ねる毎にうろつくことが少なくなった (慣れ)。しかし、BH-4 マウスは、うろつく距離があり、上下運動 [立ち上がり] もみられ、非常にパニックな様子を示した。
- (iii) 洗顔・毛づくろい (落ち着きの指標) : μG 前だけに見られた洗顔や毛づくろいは、BH-4、BH-8 マウスともに μG 後は一度も無かった。平行飛行時だけを見ると、BH-4 マウスは時間を追うごとに落ち着きがなくなるのに対し、BH-8 マウスは逆に平行飛行が続くにしたがって落ち着く様子を見せた (Fig. 6)。

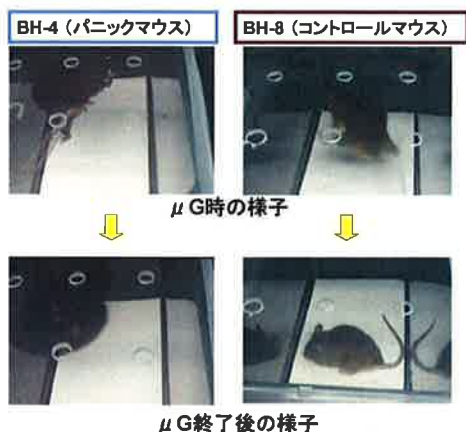


Fig. 6. Belabor before and after μG .

- (2) パラボリックフライトによって遺伝子発現が変化した遺伝子数 (15,000 遺伝子中、大脳および小脳での 16 倍以上の変化) に関しては、BH-4 マウスでは大脳において多くの遺伝子の発現抑制がみられたのに対し、対照に用いた BH-8 マウスでは運動に関与する小脳で、非常に多くの遺伝子に発現抑制が強度に認められた。しかし、肝臓では μG 前後で大きな変化が認められなかった。瞬時の重力変化直後の生体反応が分子レベルで強烈であり、遺伝子発現の変化は脳組織特異的に起こっていると思われる (Table 3)。
- また、情動行動に関与する遺伝子の変化よりも、通常の機能遺伝子の強力な発現抑制が広く見られた。さらに n 数を増やし、経時的変化、ヒト組織での検出も含め、パラボリックフライト実験を 2010 年 10 月に実施、現在解析中である。

基礎実験では、BH-4 マウスの行動異常は、ある種の薬剤で抑制されることも認めており、今後の研究進展が期待される。

BH-4(panic mouse)

	Cerebrum	Cerebellum	Liver
Decrease	77	6	10
Increase	7	11	19

BH-8(control mouse)

	Cerebrum	Cerebellum	Liver
Decrease	16	>300	14
Increase	2	15	13

Table 3. Numbers of genes showing 16-fold changes in gene expression just after μG flight.

謝辞: 文科省科研費基盤研究 A、宇宙フォーラム、厚労省科研費、武田科学振興財団助成金、アミノアップ化学助成金、住友財団環境科学助成金および医薬基盤研究所創薬等モデル動物研究プロジェクト (野村プロジェクト) の支援を受けた。

参考文献

- Shigeki Adachi, Haruko Ryo, Tadashi Hongyo, Hiroo Nakajima, Rie Tsuboi-Kikuya, Yoriko Tokita, Fumio Matsuzuka, Keizo Hiramatsu, Kazuo Fujikawa, Tetsuo Itoh, Taisei Nomura Effects of Fission Neutrons on Human Thyroid Tissues Maintained in SCID Mice. *Mutat. Res.*, 696,107-113 2010
- M. Kodaira, H. Ryo, N. Kamada, K. Furukawa, N. Takahashi, H. Nakajima, T. Nomura and N. Nakamura No evidence of increased mutation rates at microsatellite loci in offspring of A-bomb survivors. *Radiat. Res.* 173, 205-213, 2010.
- Taisei Nomura. Biological Consequence and Health Concern from Low Dose and Low Dose Rate Radiations in Mice and Humans. *Health Physics.*, 2011 (in press)
- Nomura, T., Hata, S., and Kusafuka, T. Suppression of developmental anomalies by maternal macrophages in mice. *J. Exp. Med.*, 172: 1325-1330,1990.
- 野村大成、梁治子、足立成基、時田偉子、堀家なな緒、中島裕夫、本行忠志、藤川和男、伊藤哲夫、落合俊昌、行徳淳一郎、桂洋介。宇宙環境の人体影響評価 (2009 年度ワーキンググループ活動報告)。 *Space Utiliz Res.*, 26: 249-251, 2010.