

新博士紹介

1. 氏名 渡邊立子

(現: 日本原子力研究所 高崎研究所
環境・資源利用研究部 バイオ技術研究室)

2. 論文提出大学 総合研究大学院大学 数物科学研究科

3. 学位の種類 博士(理学)

4. 取得年月 1994年3月

5. 題目 単色軟X線による生体分子の分解機構

6. アブストラクト

(1) 背景及び目的

人間にとって致死的な放射線の総量は、体温を0.001℃しか上昇させないようわずかな量である。放射線がこのように効率よく生物に作用するのは、作用の出発点となる電離・励起が離散的かつ局所的に生じるためである。そして、電離・励起がどこに、どの程度の密度で生じるのかが、生物に現われる影響とそこに至る過程を決定する重要な要素であると考えられる。単色化した放射光によって選択的に生体分子の内殻電離を起こして照射効果との関係を調べる研究は、電離部位を制御した研究の一つである。電離の密度については、重粒子線などの高LET(高密度で電離を起こす)放射線の細胞致死効率が、 $^{60}\text{Co}\gamma$ 線等の低LET放射線に比べて大きくなるがよく知られている¹⁾。一方では、拡散性の水ラジカルの収率は、細胞致死と逆に高LETになるほど減少することも知られている²⁾。これまで生細胞への効果は、細胞中の3分の2を占める水に生じるラジカルを介した生体分子変化が原因であると説明されることが多かった。しかし、少なくとも高密度に電離が生じる場合の現象は、このような考え方とは矛盾している。ここでは、このような高密度に電離が生じる場合の現象を矛盾なく説明することを目的として研究を行なった。

細胞内ではDNAなどの巨大な生体分子が凝集して存在しているため、細胞は不均一な濃厚水溶液とみなせる。しかし、水ラジカルの収率や生体分

子変化とその中間過程は、均一系とみなせるような希薄水溶液中で主に調べられてきた。このような濃度の違いは分子変化の機構において重要である。そこで、単色化した放射光を利用して電離密度を制御し、濃厚と希薄の二つの水溶液系において電離密度と分子変化収率との関係を調べ、共通の反応機構について検討した。

(2) 濃厚水溶液中での分子内特定元素励起の効果

放射線の主要な生体中の標的分子とされるDNAのモデル分子として、核酸構成分子でリン酸基を三つ持つアデノシン5'三リン酸(ATP)を選び濃厚水溶液とした。これに、単色軟X線を照射し、リンK殻光吸収により放出されるオージェ電子が生む電離が、分解生成物の収率に及ぼす影響を調べた。

水溶液の濃度は、150mg/mlと530mg/mlの二点用意した。KEK・PF BL-27Aにおいて、リンK殻吸収端付近でATP水溶液の吸収スペクトルを測定し(Fig 1)、リンK殻共鳴吸収ピーク(2153eV)およびその低エネルギー側(2146eV)で照射を行った。 $^{60}\text{Co}\gamma$ 線照射も行なった。分解生成物の同定・定量は、高速液体クロマトグラフィーで行い、主要な分解生成物のひとつであるアデニンのG値

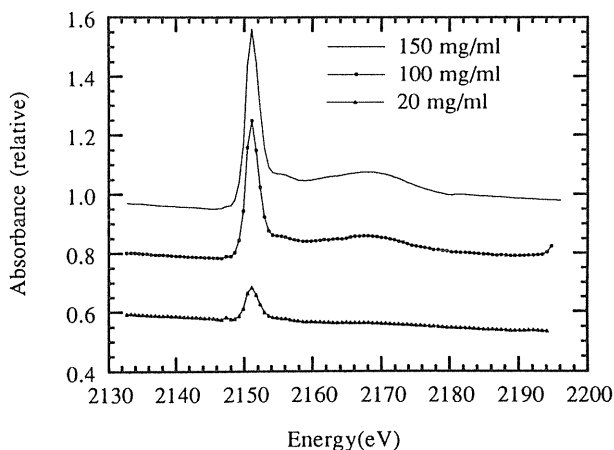


Fig. 1 リンK殻吸収端付近のATPの水溶液の吸収スペクトル。三つの異なる濃度の水溶液についての測定結果を示した。

Table 1 ATP水溶液をリンK殻共鳴吸収ピーク(2153eV)とその低エネルギー側(2146eV)のX線及び $^{60}\text{Co}\gamma$ 線で照射したときに生成された分解生成物のG値

Sample solution	Product	2146eV	2153eV	$^{60}\text{Co}\gamma$ -rays
ATP 150 mg/ml	Adenine	1.1 ± 0.1	1.6 ± 0.2	0.88 ± 0.04
	AMP	(0.14)	(0.48)
	ADP	(0.12)	(0.47)
ATP 530 mg/ml	Adenine	1.4 ± 0.2	2.5 ± 0.3	0.93 ± 0.05

*G値:100eVのエネルギー吸収当りに生成された分解生成物の分子数

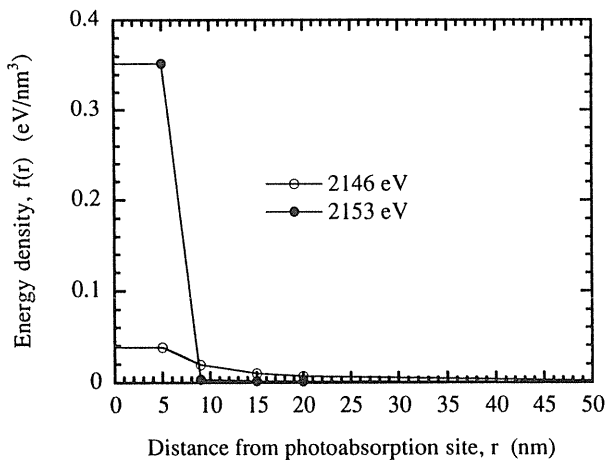


Fig. 2 ATP ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_{13}\text{N}_5\text{P}_3\text{Na}_2$)に、リンK殻共鳴吸収ピーク(2153eV)とその低エネルギー側(2146eV)のX線を照射した時に放出される光電子およびオージェ電子によって付与されるエネルギーの空間密度を、光吸収部位からの距離に対して示した。エネルギーの空間密度は、各々の電子の飛程を半径とする球状の領域内に、各々の電子のエネルギーが均等に付与されると仮定して見積った。

(100eV吸収あたりの収率)を調べた(Table 1)。その結果、リンK殻光吸収により収率は増加すること、ATP濃度を高くすると収率も高くなること、 $^{60}\text{Co}\gamma$ 線で照射した場合は軟X線で照射した場合に比べて収率が低く濃度依存性もないこと、がわかった。また、1光子吸収あたりの収率を求めてみると、どの場合も1を大きく越えることがわかった。これは、分解した分子の大部分が二次電子によって分解したにもかかわらず、光吸収部位の違いが分子の分解数に影響したことを意味する。二つのX線による二次電子の総エネルギーを計算して比較すると、5%程度の差しかない。従

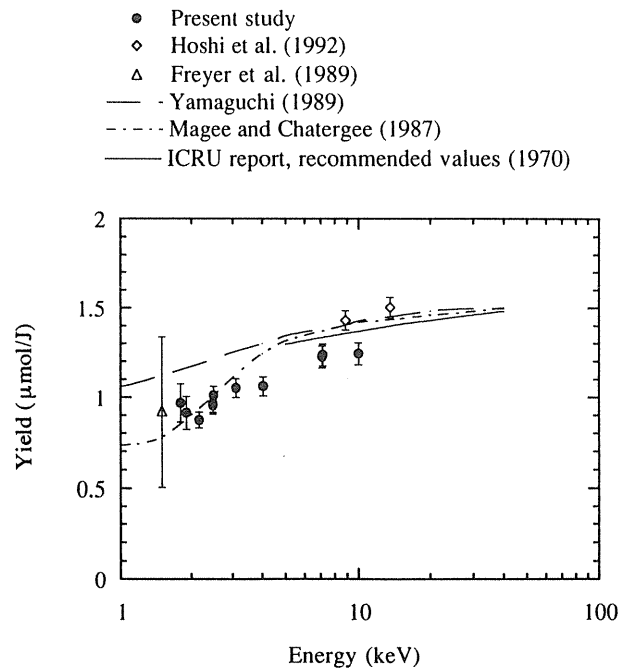


Fig. 3 1mM 硫酸第一鉄溶液の酸化収率の照射エネルギー依存性。本実験の結果と合わせて、これまでの報告にある実験値とシミュレーションによる推測値をプロットした。

って、そのエネルギー分布の差が生む電離密度の差が収率増加をもたらしたと結論づけることができる。この結論を補強する意味で、二つのX線のATPによる光吸収によって放出される二次電子のスペクトルを計算し、これらの電子が光吸収部位の周囲に与えるエネルギーの空間密度を見積り、比較した(Fig 2)。これによると、光吸収部位から5nm程度(リンのL-MMオージェ電子の飛程に相当)の領域では、リンK殻光吸収が起こると起こらない場合に比べて9倍程エネルギーの空間密度

が高くなった。用いた水溶液では、この領域に100あるいは300個平均でATPが存在する。これらから、濃厚水溶液中でのアデニン収率の内殻吸収に伴う変化には、電離とATP分子両方の空間分布が寄与すると考えられた。

(3) 希薄溶液中での分子変化収率の二次電子エネルギー依存性

希薄水溶液の系として、水溶液中での放射線化学反応の指標として多くの研究が行なわれてきた1mM硫酸第一鉄溶液(標準フリッケ溶液³⁾)を選んだ。硫酸第一鉄溶液の酸化収率と電離密度の関係は粒子線を用いて調べられており^{4,5)}、高密度になるほど収率が低くなることが報告されている。照射X線のエネルギーとの関係も7keV以上の領域では調べられている^{6,7)}が、それ以下の領域では1.5keVの一点⁸⁾を除いて実験データはない。シミュレーション^{9,10)}によるとこの間の領域での収率は、それ以上の領域に比べて顕著な変化を示し興味深い。そこで、ここでは1.8keVから10keVの単色X線を照射し、酸化収率との関係を調べた。

100 μ lの試料を2mmの溶液層のセルに入れ、KEK・PF BL-27Aおよび27Bで照射した。照射直後に照射による304nmの吸光度の増加を測定し、3価の鉄イオンの収率を求めた。この結果、酸化収率はX線エネルギーの減少にともなって減少し、これまでの報告から推測される傾向に一致した(Fig 3)。これは、軟X線照射による放出された光電子がその飛跡に沿って高い密度で電離を起こすと、高励起状態のイオンやラジカルが生成している領域であるスパーの空間分布が密になり、水ラジカル間の相互作用が起きて活性を失い溶質分子の化学変化に寄与できなくなるためであるという従来の考え方で説明できる結果である。また、軟X線の高LET放射線としての性質を裏付ける結果でもある。

(4) 考察

高密度の電離は、希薄水溶液では化学変化収率を減少させるが、濃厚水溶液では、逆にこれまでに報告されている生物への効果と同様に、化学変化収率を増加させることがあることが示された。このような電離密度と化学反応収率の関係は、水溶液中での反応の場をスパー様の、高励起状態にある場(以下ホットな領域と呼ぶ)とその外の場(以下コールドな領域と呼ぶ)の二つにわけて、別々の化学反応が起こっていると仮定することによって説明しやすくなると考えた。希薄水溶液ではホットな領域の中に溶質分子はほとんど存在しないのでホットな領域の中で生成したラジカルがコールドな領域に拡散されてきて溶質分子と反応する。電離密度が高くなるとホットな領域の中でラジカル相互の反応によって消滅する確率が高くなり、コールドな領域に拡散してくるラジカルが減少するので分子変化の収率が減少する。濃厚水溶液では、ホットな領域に溶質分子が存在するので溶質分子ラジカルやホットな領域にのみ存在する短寿命の水ラジカルと溶質分子の反応を考える必要がある。これらのラジカルの密度は電離密度が高いほど高くなるので、それら相互の反応によってより効率よく分子変化が生成すると考えると、高電離密度によって化学変化の収率が増加することが説明できる。高LET放射線による細胞致死の原因となる分子損傷は局所的な複数の損傷の重なりによって現われるといわれているが、変化を受けた分子どうしの相互作用を見ているという意味で、濃厚水溶液での高電離密度による高い化学変化収率と共通の機構を持つ可能性がある。以上のような仮定に基づくと、電離密度の高い、高LET放射線によって生物照射効果は増大するが、希薄溶液での化学変化の収率は減少するという現象を説明できると考えた。

文献

- 1) Kiefer, J. Biological Radiation Effects (Springer-Verlag, 1990).

- 2) Magee, J. L. and Chatterjee, A., J. Phys. Chem., **84**, 3537 (1980).
 3) Fricke, H. and Hart, E. J., Chemical dosimetry. Radiation Dosimetry, II (Academic press, 1966).
 4) Gordon, S. and Hart, E. J., Radiat. Res., **15**, 440 (1961).
 5) Fregene, A. O., Radiat. Res., **31**, 256 (1967).
 6) ICRU, Report No. 17 (ICRU, Washington, DC, 1970).
 7) Hoshi, M., Uehara, S., Yamamoto, O., Sawada, S., Asao, T., Kobayashi, M., Maezawa, H., Furusawa, Y., Hieda, K. and Yamada, T. Int. J. Radiat. Biol., **61**, 21 (1992).
 8) Freyer, J. P., Schillaci, M. E. and Raju, M. R. Int. J. Radiat. Biol., **56**, 885 (1989).
 9) Magee, J. L. and Chatterjee, A., J. Phys. Chem., **82**, 2219 (1978).
 10) Yamaguchi, H., Radiat. Phys. Chem. **34**, 801 (1989).

(受付番号 95017)

バックナンバー紹介

放射光シンポジウム'94

「放射光化学の最先端」

主催 日本放射光学会

体裁 B5判, 80頁 定価 2,000円 (送料込)

内 容

- | | |
|----------------------------|-----------------------|
| 1. (特別講演) 化学と放射光 | 井口 道生 (Argonne 国立研究所) |
| 2. 超励起分子のダイナミクス | 鶴飼 正敏 (東工大・理) |
| 3. 高分解能軟X線を用いた内殻励起分子の振動分光 | 小杉 信博 (分子研) |
| 4. 有機固体薄膜の放射光励起角度分解光電子分光 | 上野 信雄 (千葉大・工) |
| 5. NEXAFSによる表面吸着分子の構造と電子状態 | 横山 利彦 (東大・理) |
| 6. 軟X線励起による表面分子の光分解反応 | 田中健一郎 (高工研) |
| 7. 表面光化学反応の半導体プロセスへの応用 | 西山 岩男 (日本電気) |
| 8. 触媒構造を解明するXAFS | 朝倉 清高 (東大・理) |
| 9. X線マイクロプローブによる微量元素の状態分析 | 早川慎二郎 (東大・工) |

申込先 日本放射光学会事務局 〒170 豊島区東池袋2-62-8 ビックオフィスプラザ507
 (有)ワーズ内 TEL 03-5950-4896 FAX 03-5950-1292

☆申込用紙に必要事項をご記入の上、郵送またはFAXにてお申込み下さい。

..... 切りとり線

バックナンバー購入申込用紙

ご希望書籍名 _____ ご希望冊数 _____ 冊

お名前 _____ 所属機関 (部, 科, 課) _____

送付先ご住所 〒 _____

_____ 電話 _____