

6.3.3 低線量率 γ 線連続照射がマウスの造血幹細胞系列に及ぼす影響

Effect of Continuous Exposure to Gamma-Rays at Low Dose Rate on Murine Hematopoietic Stem Cell Lineage

廣内 篤久, 田中 聡, 田中 イグナシア III ブラガ, 一戸 一晃, 田中 公夫
生物影響研究部

Tokuhisa HIROUCHI, Satoshi TANAKA, Ignacia Braga-TANAKA,
Kazuaki ICHINOHE, Kimio TANAKA
Department of Radiobiology

Abstract

The origin of radiation-induced leukemic stem cells (LSC) is still unknown and is often a source of controversy in many studies. Our previous report showed that LSCs in acute myeloid leukemia (AML), induced in mice exposed to low-dose-rate (LDR) γ -ray exposure for 400 days at a rate of 20 mGy/22h/day, are similar to common lymphoid progenitors, whereas, AMLs induced by acute radiation exposure at 1.0 Gy/min resemble common myeloid progenitors. To determine whether the radiation dose rate (i.e. high-dose-rate versus low-dose-rate) effect on the origins of radiation-induced leukemias is quantitative or qualitative, 8 week-old male B6C3F1 mice were exposed to a total accumulated dose of 8 Gy at LDRs. The components of the bone marrow from the humerus and femur of both irradiated and non-irradiated mice were analyzed at pre-determined intervals within the irradiation period (400 days). The population of hematopoietic stem cells in the bone marrow of irradiated mice showed no increase in number after 200 days of irradiation and was significantly decreased compared to non-irradiated mice after 400 days of irradiation. Both multi-potent and common lymphoid progenitors did not show any increase in number after 200 days of irradiation. An increase in the number of common myeloid progenitors was observed in both age-matched non-irradiated control mice and irradiated mice after 200 days of irradiation. Although a sharp decline in the number of common myeloid progenitors was seen after 300 days of irradiation, the numbers gradually returned to original levels 100 days after the radiation exposure was completed. These results indicate that continuous LDR γ -ray exposure affects the population of the lymphoid progenitors and stem cells, but not myeloid progenitors.

1. 目的

低線量率放射線がん遺伝子影響実験調査(平成17年度~21年度)では、低線量率・高線量放射線(LDR/HD)によって誘発されたマウスの白血病(Tanaka *et al.* 2003, Tanaka *et al.* 2007)と、高線量率・高線量放射線(HDR/HD)によって誘発されたマウスの白血病にはいくつかの違いがあることが明らかになった。HDR/HD誘発白血病では80%以上の症例でPU.1遺伝子の不活性化が白血病の発

生に関連していることがすでに報告されていたが(Cook *et al.* 2004)、平成22年度の本調査でHDR/HD誘発白血病の白血病幹細胞は健常な骨髓球系共通前駆細胞(CMP)と類似していることが明らかになった(Hirouchi *et al.* 2011)。一方、マウスのLDR/HD誘発白血病はPU.1遺伝子の異常頻度が低く、白血病幹細胞の多くが健常なマウスのリンパ球系共通前駆細胞(CLP)に類似しており、骨髓球系共通前駆細胞に類似している症例は

非常に稀であった。本年度は、LDR/HD 誘発白血病の白血病幹細胞の発生機構に注目して、連続照射を開始後 400 日間、及び、400 日間の連続照射終了後から 200 日までの期間に、LDR/HD 照射が白血病発生前の骨髄中の血細胞数に与える影響を調べた。

2. 方法

B6C3F1 のオスマウスに SPF 環境下で 20 mGy/22 h/day の低線量率 γ 線連続照射を 8 週齢から開始した。照射開始から 100 日、150 日、200 日、400 日時点でそれぞれ照射マウス (IR マウス) の骨髄と脾臓中の細胞について細胞表面マーカーの解析を行い、10 種類の細胞分化段階に分類して、各分化段階の細胞数を決定した。これと同週齢の非照射マウス (non-IR マウス) についても同様の解析を行い、両者を比較した。IR マウスでは、 γ 線を 400 日間連続照射後に照射装置のない SPF 環境下で飼育し、照射終了後からさらに 100 日後と 200 日後においてそれぞれ細胞表面マーカー解析を行った。照射群と非照射群のマウス個体数は

Table 1. Experiment schedule showing the number of male B6C3F1 mice examined at each time.

IR-day ^a (age)	non-IR	IR
Day 0 (8 weeks)	10	-
Day 100 (22 weeks)	9	10
Day 150 (29 weeks)	14	10
Day 200 (36 weeks)	4	10
Day 300 (50 weeks)	8	10
Day 400 (65 weeks)	5	11
^b Day 500 (79 weeks)	0	13
^c Day 600 (93 weeks)	0	3

^aDays from the start of exposure to γ -ray at dose rate of 20 mGy/day.

^b100 days after 400 days exposure.

^c200 days after 400 days exposure.

Table 1 を参照。

3. 成果の概要

低線量率 (20mGy/22h/day) の γ 線連続照射が細胞数に与える影響は、細胞分化段階の違いによって異なることが観察された (Fig. 1)。骨髄における造血細胞の中で最も未熟な造血幹細胞 (HSC)

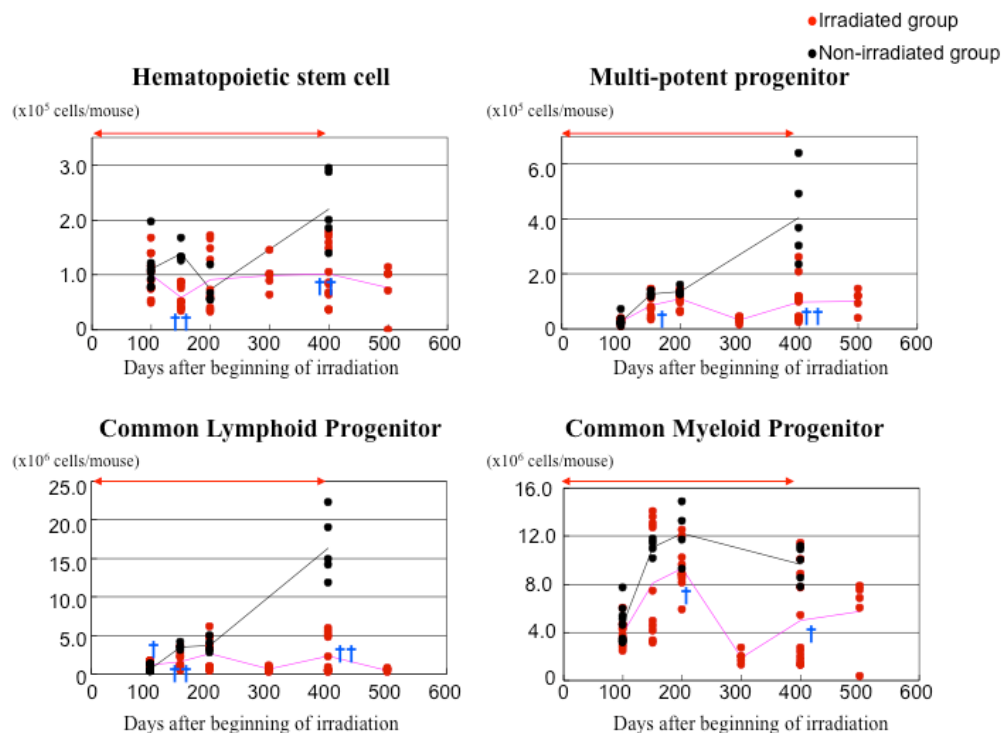


Fig. 1 Population of bone marrow cells, classified into four differentiation stages, collected from male B6C3F1 mice exposed to 20 mGy/22h/day γ -rays as compared to the non-irradiated controls.

数は、照射開始から 100 日目と 200 日目では IR マウスと non-IR マウスの間に有意差が観察されなかったが、150 日目と 400 日目では IR マウスの HSC 数は non-IR マウスに比べて有意に少なかった (Student t-test, $p < 0.01$)。HSC の次に未熟な造血細胞である多能性前駆細胞 (MPP) と最も未熟なリンパ球系細胞である CLP の細胞数は、いずれも HSC と同様に 150 日目と 400 日目で IR マウスの方が non-IR マウスに比べて有意に少なかった。これに対して、最も未熟な骨髄球系共通細胞である CMP では、非照射マウスと比べて有意な細胞数の低下 (Student t-test, $p < 0.05$) が観察されたのが 200 日目と 400 日目であり HSC、MPP、CLP に比べて遅かった。これらの結果から、連続照射開始 400 日後の IR マウスの CLP 数は、HSC、MPP と CLP それ自身の過剰な細胞分裂によって維持されており、CMP に比べて細胞分裂の回数が多くなっている可能性が考えられる。このことから、LDR/HD 誘発白血病の白血病幹細胞は、過剰に細胞分裂した CLP から発生している可能性が考えられる。

引用文献

- Tanaka, S. *et al.* (2003) *Radiat. Res.*, 160, 376-379.
Tanaka, I. B. III *et al.* (2007) *Radiat. Res.*, 167, 417-437.
Cook, W. *et al.* (2004) *Blood*, 104, 3437-3444.
Hirouchi, T. *et al.* (2011) *Radiat. Res.*, 176, 311-322.