

6.3.3 低線量率 γ 線連続照射マウスに生じた白血病における DNA 修復系遺伝子変異と遺伝子発現量の変化の解析

—低線量率 γ 線連続照射がマウスの造血幹細胞系列に与える影響—

Mutations and Expressions of Genes Associated with DNA Repair System in Leukemias Developed by Continuous Exposure to Gamma-Rays at Low-Dose-Rate - Effect on Murine Hematopoietic Stem Cell Lineage in Continuously Exposed Mice -

廣内 篤久, 田中 聡, 田中 イグナシヤ, 一戸 一晃, 田中 公夫
生物影響研究部

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

Abstract

Continuous γ -ray irradiation at low-dose-rates (LDRs) and medium-dose-rates (MDRs) also induce leukemias in mice just as acute irradiation induces them at high-dose-rates. It is important to identify the origin of leukemic stem cells (LSCs), as that may make it possible to clarify the process in which normal cells it transforms are transformed into LSCs by LDR radiation. Previous experiments showed that LSCs in mice induced by LDR or MDR radiation had similarities with common lymphoid progenitors (CLPs), mature B cells and granulocytes. We hypothesize that LDR or MDR radiation affects immature and mature cells in the lymphocytic lineage and causes them to transform into LSCs. In this study, we analyzed hematopoietic cells from male SPF B6C3F1 mice exposed to ^{137}Cs γ -rays from 8 weeks of age at LDR of 1 mGy/day (100, 200 and 300 days; total dose = 0.1, 0.2 and 0.3 Gy) and 20 mGy/day (100, 200, 300 and 400 days; total dose = 2.0, 4.0, 6.0 and 8.0 Gy). Mice were also analyzed at days 100, 200, 300 and 400 after MDR irradiation of 400 mGy/day (20 days; total dose = 8.0 Gy). Hematopoietic cells of mice bearing no tumors were analyzed using FACS. The number of CLPs in mice exposed to 20 mGy/day (at days 300 and 400), and 400 mGy/day (at days 200 and 300) were lower than that of the age-matched non-irradiated mice. Meanwhile, the effects of the LDR or MDR irradiation on B cells and granulocytes were relatively small. Hematopoietic stem cells and multi-potent progenitors showed similar alterations to the CLPs and decreased in number when exposed to LDR or MDR radiation. No significant change was observed in the cell numbers of mice exposed to 1 mGy/day, although hematopoietic stem cells showed a transient increase at day 100. It is likely that LDR and MDR radiation-induced leukemias originate from immature cells of lymphocytic lineage involving CLPs, hematopoietic stem cells and multi-potent progenitors.

1. 目的

これまでの調査によってマウスの低線量率放射線の長期照射によって発生した白血病は、高線量率放

射線の急照射による白血病とは異なる性質を有することが明らかになった (Tanaka *et al.* 2007)。高線量率放射線誘発白血病の白血病幹細胞は骨髓球系共通

前駆細胞に類似しているものが多かった (Hirouchi *et al.* 2011) が、低線量率放射線誘発白血病の白血病幹細胞は多能性前駆細胞やリンパ球系共通前駆細胞に類似しているものが多かった。高線量率放射線誘発白血病の骨髓球系共通前駆細胞に類似した白血病幹細胞は *PU.1* 遺伝子の不活性化により赤血球、マクロファージ、顆粒球への細胞分化が阻害されていた (Hirouchi *et al.* 2011)。対照的に低線量率放射線誘発白血病では *PU.1* 遺伝子の異常と骨髓球系共通前駆細胞の分化阻害は観察されず、リンパ球系共通前駆細胞様の白血病幹細胞の分化阻害はほとんど無く細胞増殖が亢進して下流の T 細胞が増加していた。

本調査では、これらの白血病幹細胞の性質の違いは様々な細胞分化段階の造血細胞の高線量率放射線と低線量率放射線に対する感受性の違いから生じていると考えて、400 日間の低線量率放射線の照射開始時から白血病が最も多く発症する照射後 200 日までの造血幹細胞や前駆細胞を含む各血球の変化を解析し、白血病幹細胞の誘発機構の一端を解明することを目的とする。

2. 方法

B6C3F1 のオスマウスに SPF 環境下で 20 mGy/22 時間/日 (以降 20 mGy/日の様に記載) の低線量率 γ 線を 8 週齢から 400 日間連続的に照射した。照射開始から 100 日、150 日、200 日、300 日、400 日時点でそれぞれのマウスの骨髓と脾臓の細胞を細胞表面マーカーの発現プロファイルに基づいて、造血幹細胞、多能性前駆細胞、リンパ球系共通前駆細胞、骨髓球系共通前駆細胞、赤血球系細胞、マクロファージ、顆粒球、ヘルパー T 細胞、キラー T 細胞、B/NK 細胞の 10 種類に分類し、細胞数を決定した。これと同週齢の非照射 SPF B6C3F1 オスマウスについても同様の解析を行い、それとの比較により 20 mGy/日の長期照射による影響を解析した。

また、低線量率 γ 線の長期照射との比較のために、400 mGy/日の中線量率 γ 線の 20 日間照射と、さらに低い線量率の 1.0 mGy/日の γ 線の 400 日間照射を SPF 環境下で B6C3F1 オスマウスに行い、上記の各血球数の解析を行った。

3. 成果の概要

400 日間の照射終了時に、20 mGy/日照射群の骨髓中の造血幹細胞、多能性前駆細胞、リンパ球系共通前駆細胞、顆粒球が同週齢の非照射群に比べて有意に減少していた ($p < 0.01$, Student *t* test)。これらの細胞の多くが照射開始から 300 日付近以降で減少しているのに対して、造血幹細胞は照射開始から 150 日、200 日、300 日、400 日と照射の早期から細胞数の減少が認められた (Fig.1a)。

1.0 mGy/日照射群と 400 mGy/日照射群は、それぞれ照射開始から 200 日と 300 日間照射までのデータしか得られていないが、造血幹細胞に注目すると違った変化が認められた。1.0 mGy/日照射群の造血幹細胞は照射開始から 100 日で非照射群の 3 倍にまで細胞数の増加が認められた (Fig.1b)。対照的に、400 mGy/日照射群では 10 日間の照射で造血幹細胞数は非照射群の 1/25 に減少し、20 日間の照射終了時まで変化が見られず、照射開始から 100 日、200 日、300 日 (照射終了から 80 日後、180 日後、280 日後) で回復して非照射群との差が無くなった (Fig.1c)。

3 つの線量率の造血幹細胞への影響を比べると、400 mGy/日の中線量率放射線は照射期間中に急激な変化をもたらし、1.0 mGy/日の低線量率放射線はほとんど減少させない (照射開始から 100 日では一時的に増加) のに対して、20 mGy/日の低線量率放射線は照射開始 150 日から 400 日の 250 日間にわたって継続的に減少が認められた (Fig.1d)。

平成 24 年度は、20 mGy/日照射群において最も長期的に影響を受け、20 mGy/日照射群白血病の白血病幹細胞の起源として有力である造血幹細胞と、同じく白血病幹細胞の起源の候補であるリンパ球系共通前駆細胞、造血幹細胞/前駆細胞の中で最も細胞数の減少が観察されず、高線量率放射線誘発白血病の白血病幹細胞の起源の候補である骨髓球系共通前駆細胞の発現アレイ解析を行う。

引用文献

Tanaka, I *et al.* (2007) *Radiat Res.* 2007, **167**, 417-437.
Hirouchi, T *et al.* (2011) *Radiat Res.* 2011, **176**(3), 311-322.

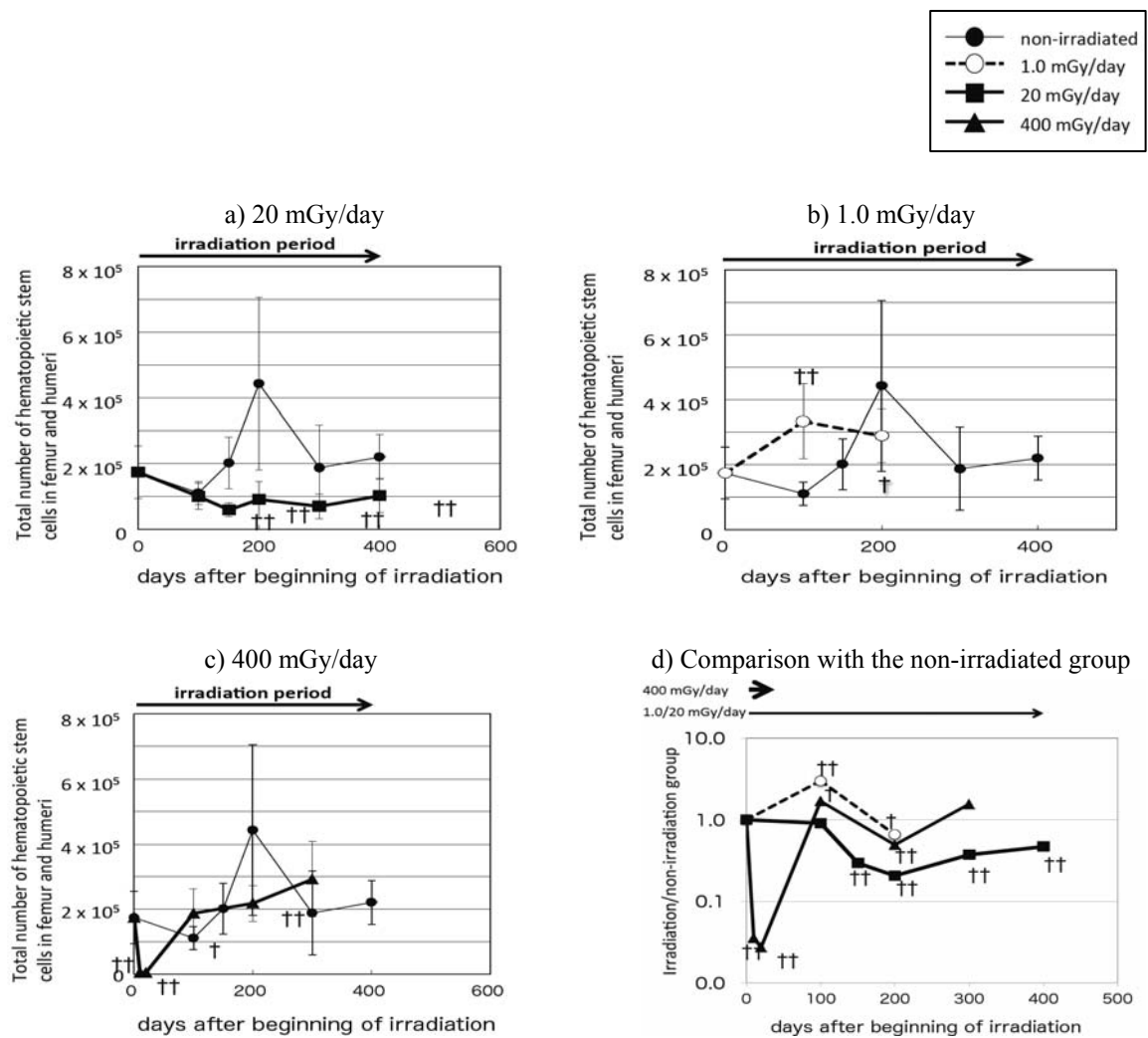


Fig. 1 Change in the number of hematopoietic stem cells over time in mice exposed to γ -rays