

6.3.4 低線量率ガンマ線連続照射マウスの造血幹・前駆細胞の遺伝子発現プロファイルの解析

ロファイルの解析

Analysis of Gene Expression Profiles of Hematopoietic Stem and Progenitor Cells Exposed to Continuous Low dose-rate Gamma-rays

廣内 篤久, 田中 聡, 田中 イグナシヤ, 小村 潤一郎
生物影響研究部

Tokuhiisa HIROUCHI, Satoshi TANAKA, Ignacia TANAKA, Jun-ichiro KOMURA
Department of Radiobiology

Abstract

We have previously shown that continuous exposure to low dose-rate (LDR) radiation is leukemogenic in mice. In this study, we investigated how LDR radiation changes cell numbers and gene expressions of immature hematopoietic cells, involving stem cells (HSCs) and three kinds of progenitor cells (HPCs). Mice irradiated with LDR (20mGy/day) γ -rays for 400 days were subjected to FACS and gene expression analysis, and the analysis results were compared with those of age-matched non-irradiated control mice. HSCs and HPCs in irradiated mice were decreased during and after the irradiation, but manners of the cell decreases showed different patterns. Although HSC decreases were the most prominent and prolonged, annotations of gene expression profiles of HSCs during and after the irradiation suggested that bio-functions associated with “cell survival” and “cell viability” were frequently promoted, and that “cell death”- and “apoptosis”-related bio-functions were suppressed. Annotation analyses of gene expression profiles of HPCs resulted similar trends. The similarities among HSCs and HPCs were more clearly found after 300-day irradiation, such that many transcription factors and biological networks predicted to be important for responding LDR radiation were identical among HSCs and HPCs at days 300 and 400. These results suggest unique LDR radiation-induced responses in immature hematopoietic cells.

1. 目的

平成 17～21 年度のがん遺伝子影響調査で、低線量率放射線の長期照射は高線量率放射線とは異なる作用機序によってマウスに白血病を発症させることが分かった。本調査では、低線量率放射線の造血細胞への影響を照射開始から継続的に造血幹細胞や前駆細胞など細胞分化段階ごとに解析することで、低線量率放射線が造血システムに与える影響を包括的に理解し、白血病幹細胞発生に至る変化解明の手がかりを得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 8 週齢から 20 mGy/22 h/day の低線量率 γ 線を 400 日間照射した。照射終了後は非照射区域で 200 日間飼育を行った。照射開始より 100 日、200 日、300 日、400 日、500 日、600 日に、それぞれ 10 匹のマウスの上腕と大腿の骨髄から造血細胞を採取し、造血細胞中の造血幹細胞、多能性前駆細胞、リンパ球系共通前駆細胞、骨髄球系共通前駆細胞など合計 10 種類の血球細胞の細胞数を決定した。また、照射開始 200 日、300 日、400 日、500 日において、各 10 匹のマウスの中から造血幹細胞数に関して平均的な結果を示した 4

匹のマウスを選択し、造血幹細胞、骨髄球系共通造血細胞、リンパ球系共通造血細胞を採取して-80℃に保存した。これらの細胞から抽出した RNA を用いてマイクロアレイ法によって遺伝子発現プロファイルを得て、Ingenuity Systems 社の Ingenuity Pathway Analysis[®]を用いてアノテーション解析を行った。非照射同週齢群においても同様の実験を行い、結果を照射群と比較した。

3. 成果の概要

造血幹細胞は、連続照射開始後 200 日、300 日、400 日で非照射群に比べて細胞数が有意に少なく、照射後非照射区域で 200 日飼育した後も回復しなかった (Fig. 1)。Ingenuity Pathway Analysis[®]を用いて造血幹細胞の遺伝子発現解析を行った結果、照射開始後 200 日では細胞増殖の促進と細胞死の抑制が予測され、高線量率放射線照射で誘発されるアポトー

シスなどによる細胞死の促進は示されなかった (Table 1)。骨髄球系共通造血細胞、リンパ球系共通造血細胞でも同様にアポトーシスを含む細胞死関連項目はほとんど推測されなかった。また、照射開始後 300 日と 400 日、すなわち長期間の照射が行われた後では、造血幹細胞、骨髄球系共通前駆細胞、リンパ球系共通前駆細胞で活性化が示唆された転写因子や生体分子間ネットワークは同じものが多く、それらの一部は上記の細胞死抑制に関与していることが示唆された。

このように、本調査では遺伝子発現プロファイル解析により低線量率放射線長期照射が造血系に及ぼす影響に関して示唆的な情報が得られた。この手法による解析を推進することにより、低線量率放射線による白血病あるいは白血病幹細胞の発生に関する有益な情報がさらにもたらされると期待される。

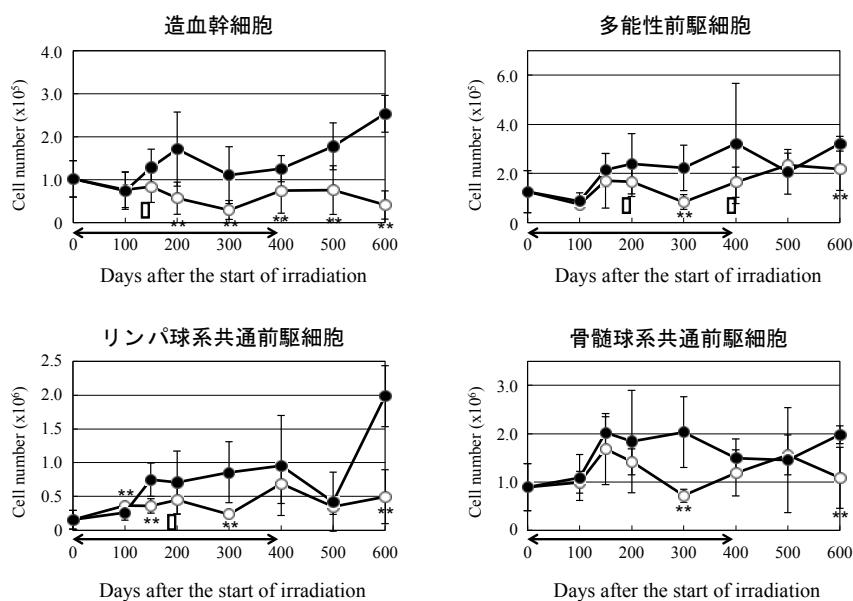


Fig. 1 Alterations in number of hematopoietic stem cells (HSCs) and three kinds of hematopoietic progenitor cells (HPCs) during and after irradiation of B6C3F1 male mice with γ -rays at a dose rate of 20 mGy/day for 400 days from 8 weeks of age. Bone marrow cells were obtained at a 100-day interval, and hematopoietic stem cells (A), multi-potent progenitor cells (B), common lymphoid progenitor cells (C) and common myeloid progenitor cells (D) were counted. Closed and open circles indicate values of non-irradiated mice and irradiated mice, respectively. Bars represent standard deviation. (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, t test)

Table 1 A part of the analysis of the gene expression profiles of hematopoietic stem cells (HSCs) in B6C3F1 male mice exposed to γ -rays at a dose rate of 20 mGy /day for 200 days from 8 weeks of age. Only cell death- or survival-related bio-functions are listed here. The activation z-scores of the bio-functions were calculated from expression profiles of top 1%, 2%, 4%, 8% or 10% of the total analyzed genes; positive z-scores predict promotion; negative z-scores predict suppression.

Diseases and Bio Functions	1%	2%	4%	8%	10%
cell survival	3.4	4.3	5.4	6.4	6.4
cell viability	3.2	4.3	5.5	6.2	6.3
organismal death			-9.7	-11.4	-1.6
apoptosis	-2.4	-1.8	-4.6	-4.0	-3.8
cell death	-2.4	-2.2	-3.7	-3.1	-3.1
necrosis	-2.8	-2.3	-3.2	-1.7	-1.4
apoptosis of leukemia cell lines	-2.9	-2.4	-0.3	-0.9	
cell death of leukemia cell lines		-2.6	-2.7	-0.5	-0.3
apoptosis of lymphoid organ				1.9	2.2
cell death of T lymphocytes				1.7	2.3
cell death of granule cells			2.6		
activation-induced cell death of T lymphocytes					2.4