

2.3 低線量率放射線に対する分子細胞応答影響実験調査

2.3.1 低線量率放射線照射による応答分子への影響解析

Analysis of Metabolism in the Liver of Low Dose-rate-irradiated Mice

杉原 崇, 藤川 勝義, 田中 聡, 田中 イグナシヤ, 小村 潤一郎
生物影響研究部

Takashi SUGIHARA, Katsuyoshi FUJIKAWA, Satoshi TANAKA, Ignacia TANAKA,
Jun-ichiro KOMURA
Department of Radiobiology

Abstract

To determine the effects of low-dose rate (LDR) radiation on metabolism, we analyzed the amount of low-molecular-weight metabolites (metabolome analysis) and the genome-wide gene expression in the liver of B6C3F1 female and male B6C3F1 mice irradiated at 20 mGy/day LDR for 300 days (total dose 6000 mGy). Both in the irradiated females and in the irradiated males under fasting conditions, when compared to the non-irradiated controls, we observed an increase in the expression of the gene for Srebp1, the master regulator of lipid homeostasis, in the liver and an increase in the level of insulin in the blood. An increase in the amount of acetyl CoA, and an decrease in the expression of the gene for pyruvate dehydrogenase kinase (Pdk4), which regulates the acetyl CoA level, were noted in the liver in the irradiated females but not in the irradiated males. These results suggest that irradiation may play a role in switching of metabolism from the fatty acid synthesis pathway to the cholesterol synthesis pathway in the liver of female mice, and also in the development of fatty liver observed in irradiated females.

1. 目的

これまで環境研で行われた調査（寿命試験、経時的剖検実験、低線量放射線生体防御機能影響実験調査、低線量率放射線に対する生理応答影響実験調査）によって、低線量率放射線照射されたメスマウスにおける肥満や脂肪肝の増加が明らかになっていることから、低線量率放射線照射の代謝への影響を解析することが重要であると考えられる。さらに最近、上記の経時的剖検実験で得られたマウス肝臓の遺伝子発現を解析した結果、低線量率照射群で発生した脂肪肝では、非照射群の自然発生の脂肪肝とは異なる遺伝子発現変化が認められることが明らかになった。そこで、これらの遺伝子発現変化によって引き起こされるフェノタイプである代謝物質の変化を調べる必要があると考えた。本課題では、新たな技術

であるメタボローム解析の結果と遺伝子発現解析の結果を比較解析することにより、低線量率放射線照射されたマウス肝臓における代謝の変化を明らかにすることを目的とした。

2. 方法

6週齢の Specific pathogen free (SPF) B6C3F1 オスマウス 8匹、メスマウス 8匹（日本クレア）を 4匹ずつ 2つの実験群（C群、LD300群）に分け、2週間の検疫の後、C群は 8週齢から 300日間 SPF 環境下で飼育した。一方、LD300群は 8週齢から 300日間低線量率（20 mGy/日）¹³⁷Cs- γ 線連続照射（集積線量 6000 mGy）を行った。全ての実験群のマウスは解剖日の前日から 22時間絶食させ、照射終了後速やかに解剖して肝臓サンプルを得た。その後、HMT社

指定の組織溶解液に 30mg の肝臓サンプルを溶解し -80°C 冷凍保存した後、HMT 社に送付し、メタボローム解析を行った。結果については、今年度の解析結果と昨年度の解析結果を統合し定量解析を行った。その際、腫瘍の発生したマウスは除外した。それにより、マウスの匹数はオスで非照射群 6 匹、照射群 8 匹、メスで非照射群 8 匹、照射群 8 匹となった。

3. 成果の概要

昨年度の網羅的な遺伝子発現解析において、低線量放射線照射が *Srebf1* 遺伝子の発現上昇を引き起こすことを見いだした。*Srebf1* の転写産物である *Srebp1* は脂肪酸合成を司るタンパク質で、「選択的インスリン抵抗性の仮説」ではインスリンによって刺激され発現増加すると考えられている (Fig. 1)。今回の実験は絶食条件下で解析したにもかかわらず、300 日目の雌雄照射群では非照射群に比べて *Srebf1* の増加が見られた。照射後 300 日目で絶食した雌雄マウス共にインスリン量が非照射群より高いことから、照射によって増加したインスリンが *Srebf1* の発現量増加を引き起こしている可能性が考えられた。一般的にコレステロール負荷もしくは過食状態時において *Srebf1* 遺伝子の発現が増加し、絶食時に発現の減少が引き起こされることが知られている。また、過食状態による *Srebf1* 遺伝子の発現上昇はアセチル CoA を脂肪酸合成への反応に導き、絶食時の *Srebp1* の発現減少は *Hmgcr* 遺伝子の発現誘導によりコレステロール合成経路の活性化に導くと考えられている。そこで、アセチル CoA の代謝の変化を中心に *Srebf1*

遺伝子発現との関連を解析した。メタボローム解析の結果、アセチル CoA はオスマウスの照射群で減少し、メスマウスで増加する傾向が見られた (Fig. 2A)。また、非照射条件下では雌雄のアセチル CoA 量に有意差がないものの、照射群では雌雄間でアセチル CoA 量の有意な差が見られた。一方、アセチル CoA になる前の CoA は照射群で雌雄とも有意に減少した。これらの結果から、照射メスマウスではアセチル CoA 産生を増加させる分子機構が働いていると考えられる。そこで、肝臓でアセチル CoA を産生する遺伝子について解析を行った。アセチル CoA 産生には解糖経路を介した反応が知られている。グルコースからピルビン酸に変換されそのピルビン酸を基質としてアセチル CoA が産生される。その際重要となるタンパク質がピルビン酸脱水素酵素 (*Pdha1*) と *Pdha1* をリン酸化しアセチル CoA 産生反応を阻害するキナーゼであるピルビン酸脱水素酵素キナーゼ (*Pdk4*) である。これらの遺伝子発現を 300 日照射マウス群で解析したところ、*Pdha1* は雌雄共に照射によって発現増加する傾向が見られた。一方、*Pdk4* はメスマウスのみで照射によって減少した (Fig. 2B)。これらの結果から、照射がピルビン酸脱水素酵素キナーゼ (*Pdk4*) の発現を弱め、その結果ピルビン酸脱水素酵素の活性が強まりアセチル CoA 産生が増加すると考えられる。よって、メスマウスでアセチル CoA 量が増加する原因として解糖系の活性化によるものがあることが示唆された。過剰アセチル CoA は脂肪酸を経て中性脂肪に変換されることから、脂肪肝発生との関係が示唆される。

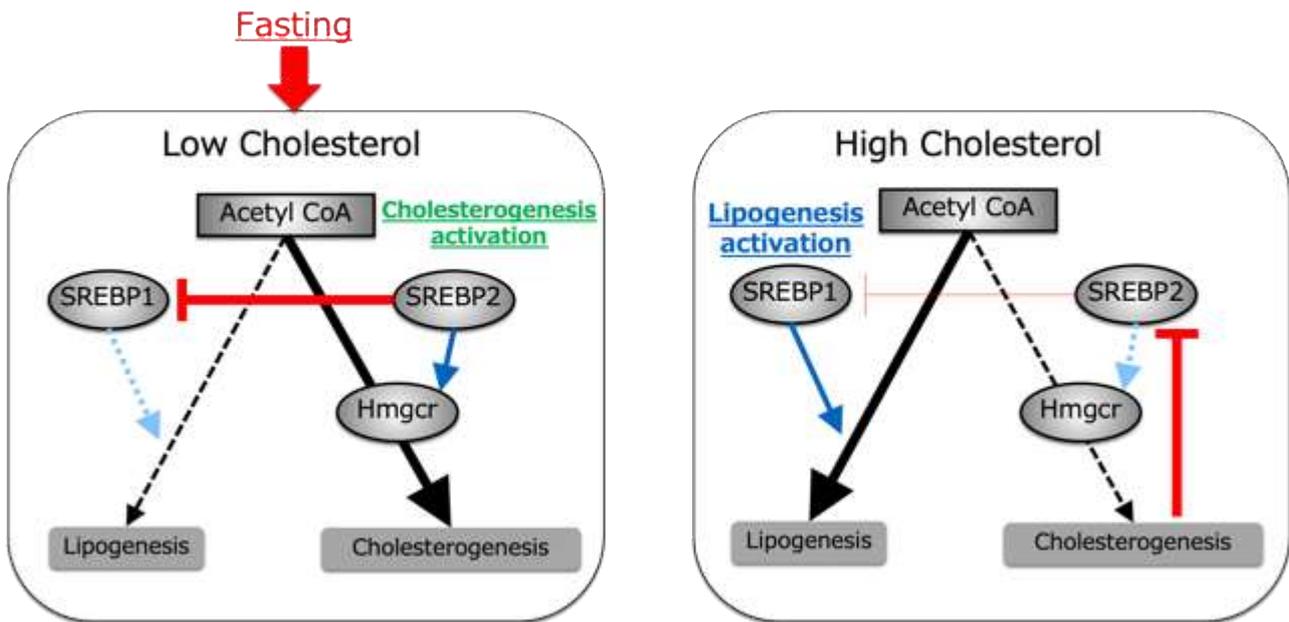


Fig. 1 Regulation of fatty acid and cholesterol synthesis pathways

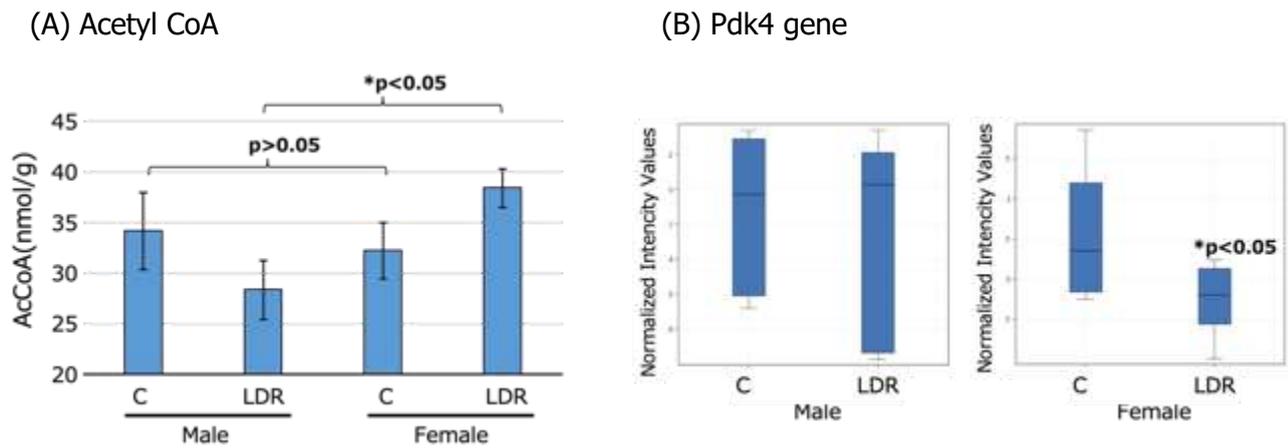


Fig. 2 (A) Amount of acetyl CoA and (B) expression of the gene for pyruvate dehydrogenase kinase (Pdk4) in the liver of male and female, low dose rate (LDR)-irradiated and control (C) mice