

2.3 低線量率放射線に対する生理応答影響実験調査

2.3.1 造血系解析

2.3.1.1 造血幹細胞の変化と寿命との関連(移植条件の検討)

Preliminary Experiment to Examine the Correlation between Hematopoietic Stem Cell Changes and Life Span

箭内 敬典, 小村 潤一郎, 田中 聡

生物影響研究部

Takanori YANAI, Jun-ichiro KOMURA, Satoshi TANAKA

Department of Radiobiology

Abstract

With the objective of clarifying whether the decrease in the number of hematopoietic stem cells (HSCs) after continuous radiation exposure is due to a direct effect (on HSCs) or indirectly via changes in the microenvironment in the bone marrow, we have planned to transplant irradiated HSCs and investigate their self-renewal capacity, differentiation ability and possible contribution to mouse life span.

Preliminary experiments showed that the optimal number of HSCs for successful transplantation is 1×10^5 cells/mouse. Experiments are underway to determine the effects on life span of transplantation of HSCs from wild type (+/+) mice irradiated at 20 mGy/day for 400 days to non-irradiated mast cell-deficient WBB6F1-*W/W^v* mice.

1. 目的

「平成 16 年度低線量放射線細胞影響調査報告書」において、メスマウス (C3H/HeN 系統) への低線量率 (20 mGy/日) 放射線の連続照射により末梢白血球数の減少及び骨髄造血幹細胞数の有意な減少が照射期間 (400 日間) 中観察され、さらに、照射が終了した後においてもその数の回復が見られないことを報告した。この原因として、

- ① 放射線照射により造血幹細胞自身の分裂能に不可逆的な影響を受けた (造血幹細胞への直接的影響)。
- ② 造血幹細胞の育成・増殖を制御している造血ニッチが放射線照射により不可逆的な影響を受けた (造血幹細胞への間接的影響)。

の 2 つの可能性が考えられる。

そこで、本解析では、①の放射線照射による造血

幹細胞数減少は、幹細胞自身への直接的影響のためである、という仮説を検証するために低線量率放射線照射造血幹細胞を移植したマウスの寿命、造血細胞の自己複製能・分化能等を指標として検討を行う。

本年度は、造血幹細胞の移植条件を決定するための検討実験 (実験 1) を行った。また、低線量率放射線照射群は、野生型 (+/+) マウスに 20 mGy/日の線量率で 400 日間 (集積線量 8000 mGy) の連続照射を、高線量率放射線照射群は、770 mGy/分の放射線 (総線量 2000 mGy 及び 4000 mGy) の急照射を行い、これらのマウスから採取した造血幹細胞を実験 1 で得られた移植条件で、*W/W^v* マウスに移植する実験を開始した (実験 2)。

2. 方法

2.1 マウス

造血幹細胞の移植は、一般的に同系統のマウス間で可能であるが、移植前にホストマウス（造血幹細胞受給マウス）の造血系を破壊するために致死線量の放射線照射を必要とする。しかし、この方法はホストマウスに放射線照射による白血病などの影響が生じるため長期的な影響を見るためには適さない。 W/W^u マウスは造血機能（造血幹細胞）に異常があり、若齢で重度の貧血を起し短命である。しかし、健全なドナーマウスの造血幹細胞を移植することによりホストマウスの造血幹細胞はドナーマウスの物に完全に置換され、正常に造血ができるようになり、寿命が延長する。また、造血幹細胞が異常であるため、通常の造血幹細胞移植に必要な放射線照射が必要なく、ホストマウスに放射線照射影響が生じない状況での造血幹細胞移植解析が可能である。これらの特徴から本解析には W/W^u マウスを用いた。

2.2 移植実験

(1)実験 1

骨髄移植実験に適した造血幹細胞数を決定するために、8週齢の+/+マウスの骨髄から細胞を無菌的に採取し、造血支持細胞を取り除いた造血幹細胞を 0 個/200 μ l/匹、 1×10^3 個/200 μ l/匹、 1×10^4 個/200 μ l/匹及び 1×10^5 個/200 μ l/匹の 4 段階に希釈し、細胞懸濁液を調整した。これらの細胞懸濁液を 10~12 週齢の W/W^u マウスの尾静脈より注射器で細胞を注入し、SPF 環境下で飼育を行った。

(2)実験 2

8 週齢の+/+マウスを用い、非照射対照群、低線量率（20 mGy/日）放射線を 400 日間連続照射する群

（低線量率長期照射群）及び、高線量率（770 mGy/分）放射線を急照射する群（高線量率急照射群）を設定した。低線量率長期照射群は AMBIC 連続照射室 (2) において照射を開始した。高線量率急照射群は、マウスをアクリル製の照射容器に入れ、 $^{137}\text{Cs-}\gamma$ 線源を備えたガンマセル (Nordion 社) を用いて、所定の線量（2000 及び 4000 mGy）に達するまで照射を行った。照射後すぐに実験 1 と同様の方法で骨髄細胞を無菌的に取り出し、造血幹細胞を 1×10^5 個/200 μ l に調整、 W/W^u マウスの尾静脈より注入し、SPF の環境下で飼育を行った。

3. 成果の概要

(1)実験 1

幹細胞を移植しなかったマウスは、半数以上が移植後 18 週までに死亡した。一方、移植を行ったマウスでは、 1×10^3 個/匹群と 1×10^4 個/匹群では 20 週以降で死亡する個体が見られ始め、 1×10^5 個/匹群では 65 週までに死亡する個体は見られなかった (Fig. 1)。以上の結果より、本解析に用いる移植細胞数を 1×10^5 個/匹とすることとした。

(2)実験 2

低線量率長期照射群は、8 週齢の+/+マウスに 20 mGy/日の線量率で連続照射を開始した。

高線量率急照射群は、高線量率放射線を総線量 2000 mGy 及び 4 000 mGy 照射した 8 週齢の+/+マウスから採取した造血幹細胞 (1×10^5 個/匹) を W/W^u マウスに移植し、SPF 飼育室で飼育を開始した。平成 28 年度末現在、実験は順調に経過している。

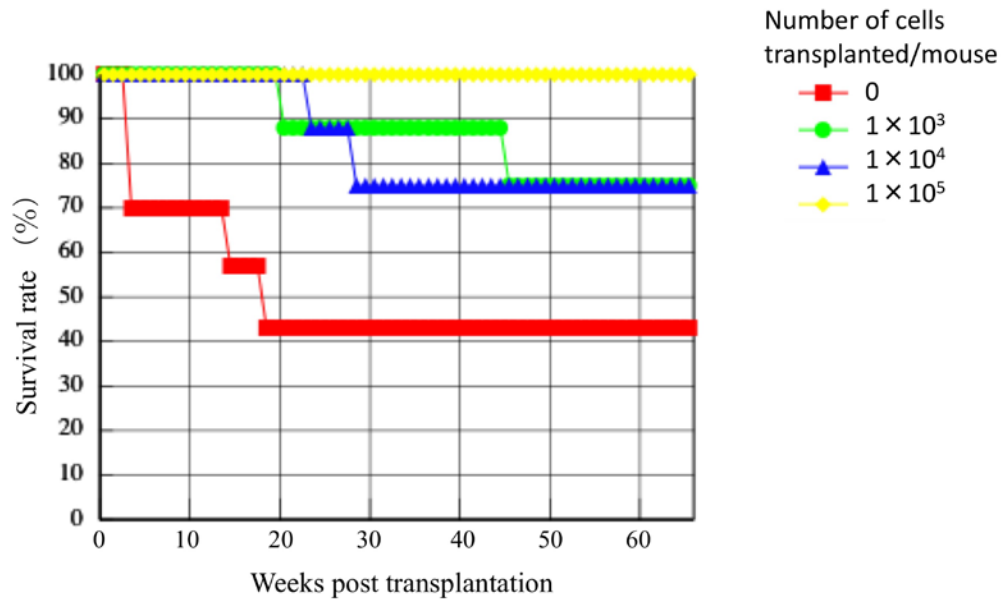


Fig. 1 Post-transplantation survival rates of WBB6F1- W/W^v mice transplanted with hematopoietic stem cells from wild type (+/+) mice.