

2.4 低線量率放射線に対する生理応答影響実験調査

2.4.1 造血系解析

2.4.1.1 造血幹細胞の変化と寿命との関連(照射+/+マウス骨髓細胞の *W/W^v* マウスへの移植実験)

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

To clarify whether the decrease in the number of hematopoietic stem cells (HSCs) after continuous low dose-rate (LDR) radiation exposure is a direct effect on HSCs or an indirect effect through changes in the bone marrow microenvironment, we transplanted irradiated HSCs and investigated their self-renewal capacity, differentiation ability and possible effects on mouse life span.

To determine the effects of irradiated HSCs on the lifespan, HSCs from wild type (+/+) mice irradiated with gamma rays at a LDR (20 mGy/day; total dose: 8000 mGy) were transplanted to non-irradiated mast cell-deficient WBB6F1-*W/W^v* mice.

No significant differences in life spans were observed between males transplanted with non-irradiated HSCs and those transplanted with HSCs from mice exposed to LDR radiation. Although lifespans of females transplanted with HSCs from mice exposed to LDR radiation were shorter than those transplanted with non-irradiated HSCs, the difference was not significant.

These results do not seem to be in favor of the “direct effect on HSCs” of continuous LDR irradiation.

1. 目的

「低線量放射線細胞影響調査:平成 13～16 年度」において、メスマウス (C3H/HeN 系統) に低線量率 (20 mGy/日) 放射線を集積線量 8000mGy (400 日間照射) まで連続照射すると、末梢血中の赤血球数及び血小板数には有意な変化は認められないが、白血球数には減少傾向が見られた。また、脾臓及び骨髓中の有核血球数には有意な変化は見られないが、骨髓造血幹細胞の CFU-S (day-12) の有意な減少と CFU-GM の減少傾向、脾臓造血幹細胞の CFU-S (day-

7) の有意な減少、CFU-S (day-12) と CFU-GM の減少傾向が認められた (CFU は増殖可能な細胞数を示す値)。さらに、骨髓造血幹細胞の CFU-S (day-12) は照射終了後 210 日目 (666 日齢) においても完全には回復しなかった。

この原因として、①放射線照射により減少した末梢血中血球数を補うために血球細胞を生産し続けたため幹細胞自身が枯渇 (老化) した、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、の 2 つの可能性

が考えられる。

そこで、本解析では、①の仮説、すなわち放射線照射による造血幹細胞数減少が造血ニッチの変化による間接的な影響のためではなく、幹細胞自身への直接影響のためであるという仮説を造血幹細胞移植マウスの寿命、造血細胞の自己複製能・分化能等を指標として検証する。

実験は、8週齢の+/+（野生型）マウスに20 mGy/日の低線量率で400日間（集積線量8000 mGy）連続照射、または高線量率（770 mGy/分）放射線を急照射（集積線量2000、4000 mGy）し、照射終了後、造血幹細胞を *W/W^v* マウス（後述）に移植する実験（放射線照射+/+マウス骨髄細胞の *W/W^v* マウスへの移植実験）および400日間低線量率連続照射されたマウスの骨髄（幹）細胞の *in vitro* での培養試験（低線量率放射線照射+/+マウス骨髄細胞の培養実験）の2項目で構成されている。

調査最終年度である今年度は、前年度に引き続き8週齢の+/+（野生型）マウスへの高線量率放射線急照射及び低線量率放射線連続照射（20 mGy/日の線量率で400日間照射：集積線量8000 mGy）及び造血（幹）細胞の *W/W^v* マウスへの移植を継続実施した。

2. 方法

実験には自家生産した *W/W^v* マウス（造血細胞移植時に致死線量の放射線全身照射を前処置として必要としない突然変異マウス）をホストとして使用し、その野生型である+/+マウスをドナーとして使用した。

8週齢の+/+マウスを非照射群、低線量率連続照射群および高線量率急照射群に分け、低線量率放射線

照射群には、20 mGy/日の線量率で400日間（集積線量8000 mGy）の連続照射、高線量率急照射群には線量率770 mGy/分で集積線量2000または4000 mGyの急照射を行った。照射終了後、マウス大腿骨から骨髄細胞を採取し、8～10週齢の *W/W^v* マウスに尾静脈より注射器で細胞（ 1×10^5 個/200 μ l/マウス）を注入したのち、SPF環境下でマウスを飼育、寿命を観察した。

3. 成果の概要

高線量率放射線を急照射したマウスの骨髄細胞を移植したオスマウスでは、寿命が短縮する傾向がみられたが、有意差は観察されなかった。一方、メスマウスでは移植後661日目までに全てが死亡し、照射群では対照群と比較して有意に寿命が短縮した。

低線量率連続照射したマウスの骨髄細胞を移植したオスマウスでは、対照群との間に有意差は観察されなかった。メスマウスでは対照群と比較して照射群で寿命が短縮する傾向が観察されたが、やはり有意差は観察されなかった（Fig. 1）。昨年度まで実施した「低線量率放射線照射+/+マウス骨髄細胞の培養実験」においては、低線量率放射線照射マウス由来の細胞を培養系に移した場合、非照射マウス由来の細胞と比較してより少ない継代数で増殖を停止することが明らかになっている。しかし、今回報告した「放射線照射+/+マウス骨髄細胞の *W/W^v* マウスへの移植実験」の結果は、少なくとも低線量率放射線連続照射の場合、造血系への影響は、造血幹細胞自身への直接的な影響より、むしろ造血支持細胞など他の細胞や組織への間接的な影響がより強いことを示唆しているように思われる。

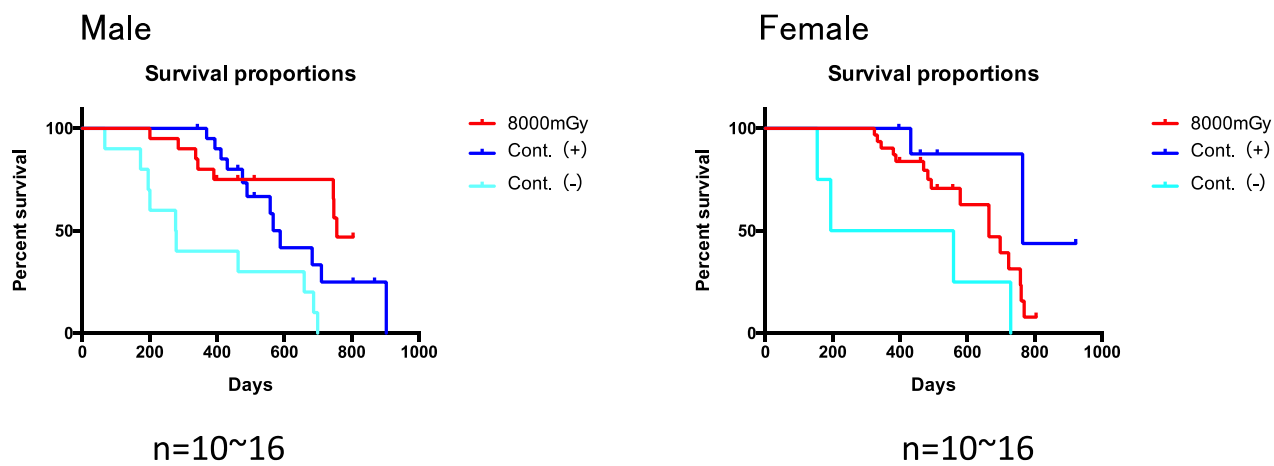


Fig. 1 Survival curves of mast cell-deficient WBB6F1- W/W^v mice.

Cont (-): non-transplanted

Cont (+): transplanted with HSCs from non-irradiated mice

8000 mGy: transplanted with HSCs from mice exposed to LDR gamma rays