

低線量率放射線による造血幹細胞の活性低下と その分子機序

大野 芳典¹, 竹立 恭子¹, 郭 芸², 菅野 雅元², 白須 直人³,
安永 晋一郎³, 大坪 素秋⁴, 瀧原 義宏^{1,5}

Yoshinori Ohno¹, Kyoko Suzuki-Takedachi¹, Yun Guo², Masamoto Kanno², Naoto
Shirasu³, Shin'ichiro Yasunaga³, Motoaki Ohtsubo⁴, Yoshihiro Takihara^{1,5}

¹ 広島大・原医研・幹細胞機能学

² 広島大・医歯薬保健学研究院・免疫学

³ 福岡大・医学部・生化学

⁴ 別府大・食物栄養科学部・発酵食品学科

⁵ 日赤・大阪府赤十字血液センター

1. Dept. Stem Cell Biol., RIRBM, Hiroshima Univ.
2. Dept. Immunol., Grad. Sch. Biomed. Sci., Hiroshima Univ.
3. Dept. Biochem., Facul. Med., Fukuoka Univ.
4. Dept. Food and Ferment. Sci., Beppu Univ.
5. Japanese Red Cross Osaka Blood Center.

緒言

放射線被ばくによる急性及び晩発性障害において造血組織は最も影響を受け易い組織の一つとして知られており、急性放射線障害においては造血不全が問題となり、晩発性放射線障害では白血病や骨髄異形成症候群などの発症が危惧される。そのため、従来から造血システムに対する被ばくの影響について多くの解析がされており、造血システムについての放射線感受性を規定する分子基盤についてマウスやヒトで明らかにされてきた。しかし、造血システムに対する放射線被ばくの影響についての多くの研究が高線量・高線量率放射線被ばくについてであり、低線量・低線量率放射線被ばくの造血システムに対する影響については充分には解明されていない。東電福島第一原子力発電所事故による放射性物質汚染の問題から低線量放射線被ばくによる健康被害について世界的に注目が集まっており、低線量放射線被ばくの研究は急務を要する。そこで当研究グループでは低線量放射線被ばくが造血システムにどのような影響を及ぼすのかについて細胞レベルから分子レベルまでの包括的な研究を行うことを計画した。

対象と方法

C57BL/6NJc1 (B6) マウスを低線量率放射線被ばく (100 mGy/day、Fig1) 環境化で7日から2ヶ月まで飼育した。飼育後、全自動血計数装置を用いて末梢血における白血球と赤血球、血小板の割合に対する低線量率放射線被曝の影響を解析した。さらに詳細に解析するために、末梢血細胞と骨髄細胞を採取して表面抗原を染色し、低線量・低線量率被ばくが造血幹細胞 (CD150⁺CD48⁻CD34⁻KSL) や前駆細胞 (c-Kit⁺Sca1⁻Lineage⁻)、各種分化細胞 (血小板や赤血球、顆粒球など) に及ぼす影響を、フローサイトメーターを用いて解析した (文献 1, 2)。また、低線量率放射線被ばく環境化で飼育した B6 マウスの骨髄細胞を用いてコロニー解析を行い、低線量率放射線被ばくが造血活性に及ぼす影響を解析した。さらに、5 系統の血球細胞系譜を追跡することのできる humanized Kusabira Orange トランスジェニック (Ku0) マウス (文献 3) に低線量率放射線を照射し、未分化造血細胞である KSL (c-Kit⁺Sca1⁺Lineage marker⁻) 細胞を採取して野生型マウスに移植し、低線量率放射線被ばくが造血幹細胞の活性に及ぼす影響を解析した。また、2 次移植を行い造血幹細胞の自己複製能を評価した。そして、造血システムに影響を及ぼす原因を同定するために、細胞内の活性酸素種 (ROS) やミトコンドリア由来の ROS、ミトコンドリアの活性について解析を行った。さらに、この結果ら防護法や治療法について検討した。

	低	中	高	
線量	< 200 (< 100)	200~2,000	>2,000	(mGy)
線量率	< 0.1 (< 0.06)	0.1~100	>100	(mGy/minute)
	<144 (< 86.4)	144~144,000	>144,000	(mGy/day)

UNSCEAR 1993 2010
(UNSCEAR 2006)

UNSCEAR : United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation

Fig.1 放射線量率の定義

結果

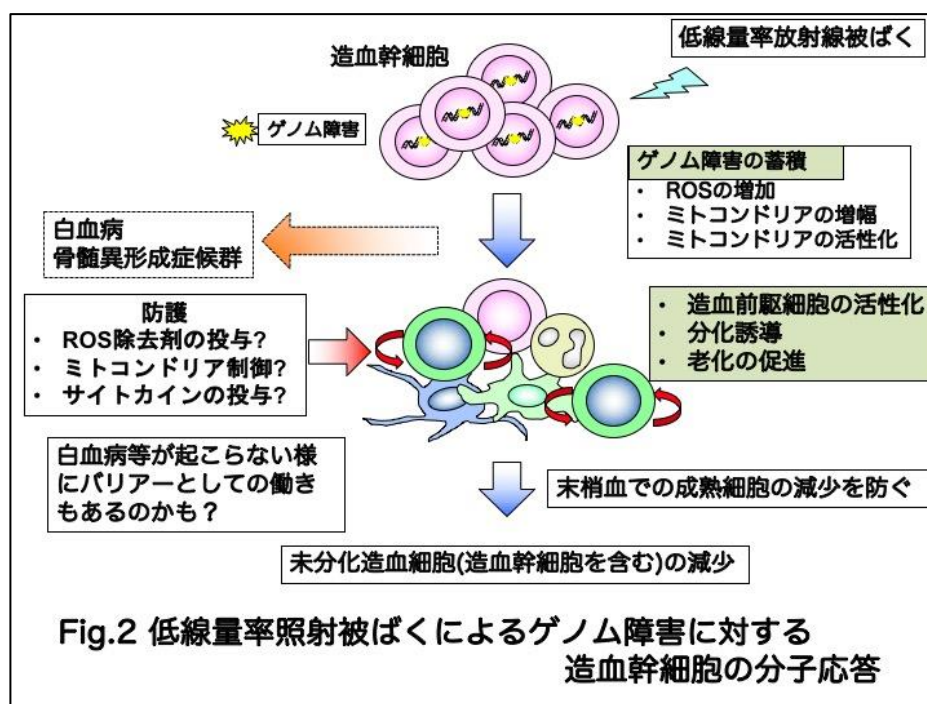
末梢血の解析によって、末梢血における白血球や赤血球、血小板の割合はあまり影響を与えていなかった。次に、フローサイトメーターを用いた解析から、末梢血や造血前駆細胞に対して低線量率放射線照射は有意な影響を及ぼさないが、未分化造血細胞である KSL 細胞や造血幹細胞が特異的に減少することを明らかにした。コロニー解析の結果、骨髄中に含まれる造血先駆細胞の数が低線量率放射線被ばく減少

しているが、造血前駆細胞の分化増殖能が活性化していることを明らかにした。さらに、Ku0 マウスを用いた解析結果から、低線量率放射線被ばくが造血幹細胞の骨髄再構築能に対して影響を与える事を明らかにし、特にリンパ球系細胞の分化が低下することを明らかにした。また、2次移植から造血幹細胞の自己複製にも低線量率放射線被ばくは影響することを明らかにした。さらに、低線量率放射線被ばくが造血システムにおいてミトコンドリアに影響を及ぼすことを明らかにした。そして、ミトコンドリアを標的とした防護法が有効であることを明らかにした。

考察

我々は低線量率放射線被ばくが造血システムに与える影響とその分子応答を明らかにすることを目的に低線量率放射線照射下で飼育したマウスを用いて解析を進めた。解析の結果、低線量率放射線被ばくによって未分化上位造血細胞の特異的な減少を明らかにしたが、この原因として低線量率放射線被ばくによるミトコンドリアの活性に対する影響が考えられた。つまり、低線量率放射線被ばくによって造血システムにミトコンドリアの活性に影響を与え、ミトコンドリア由来の ROS の産生が促されることで、未分化造血細胞のゲノムの損傷や分化が引き起こされていることを明らかにした (Fig. 2)。また、この結果からミトコンドリアの活性を抑制する脱共役剤などが防護として有効であることを明らかにした。

そこで今後は、造血システムで起きている現象を分子レベルで解明するために、単1細胞レベルでの遺伝子発現について詳細な解析を進める計画である。



結語

本研究により、低線量率放射線被ばくが造血幹細胞を含む未分化造血細胞を特異的に減少させるとともに、その機能不全も引き起こすことを明らかにした。その原因が、ミトコンドリアの機能不全にあることを導き出した。今後は、この現象を詳細に解析するために、単1細胞レベルでの解析を進めていく。

文献

1. Polycomb-group complex 1 acts as an E3 ubiquitin ligase for Geminin to sustain hematopoietic stem cell activity. Ohtsubo M, Yasunaga S, Ohno Y, Tsumura M, Okada S, Ishikawa N, Shirao K, Kikuchi A, Nishitani H, Kobayashi M, Takihara Y. Proc Natl Acad Sci U S A. 29;105(30):10396-401. 2008.
2. Hoxb4 transduction down-regulates Geminin protein, providing hematopoietic stem and progenitor cells with proliferation potential. Ohno Y, Yasunaga S, Ohtsubo M, Mori S, Tsumura M, Okada S, Ohta T, Ohtani K, Kobayashi M, Takihara Y. Proc Natl Acad Sci U S A. 107(50):21529-34. 2010.
3. Generation of transgenic mouse line expressing Kusabira Orange throughout body, including erythrocytes, by random segregation of provirus method. Hamanaka S, Ooehara J, Morita Y, Ema H, Takahashi S, Miyawaki A, Otsu M, Yamaguchi T, Onodera M, Nakauchi H. Biochem Biophys Res Commun. 14;435(4):586-91. 2013.