

重粒子線局所照射および貧血処理により誘発されるメダカ造血組織における放射線影響の解明

学籍番号 47166310

動物生殖システム分野 大橋圭太

指導教員 三谷啓志 尾田正二

【序論】

造血器官は放射線感受性が高いことで知られている。ヒトを含む哺乳類の造血器官である骨髄は、骨の内部にあるため組織の観察が難しい。魚類では腎臓が主な造血器官であることから哺乳類の骨髄と比べて組織影響の観察が容易である。所属研究室の先行研究においてメダカ

(*Oryzias latipes*) をモデル動物として末梢の赤血球および貧血時の赤芽球の放射線感受性について解析している。本研究では腎臓の造血細胞に着目し、腎臓をターゲットとした放射線の局所照射系を確立し、線種および線量の違いによる造血組織への放射線影響を明らかにするとともに、貧血処理により造血細胞の放射線抵抗性の細胞増殖が誘導される知見を得た。

【結果・考察】

1. 腎臓への照射により造血細胞は減少する

量子科学技術研究開発機構 高崎量子応用研究所が有するイオン照射研究施設を利用し、メダカの背側から深さ 2.2 mm まで照射可能なイオンビーム照射を実施した。メダカ成魚の背側全体の照射に加え、厚さ 5.0 mm のアクリル板を用いてターゲット領域以外を遮蔽し、片側腎臓、両側腎臓、腎臓以外の全身に局限して照射し、組織を検鏡して領域特異的な照射を確認した。照射 7 日後に採血して末梢血球数を測定したところ、両側腎臓を照射した群では非照射コントロール群と比べて末梢血球数が有意に減少し ($p = 0.014$)、背側照射群および片側腎臓照射群と有意な差はなかった ($p = 0.147$)。炭素イオンビームの照射でも同様の傾向が認められた。両側腎臓照射群と片側照射群はともに腎臓以外照射群と比べ有意に減少しており ($p = 0.045$)、腎臓が照射されることにより末梢血球数の減少が誘導され、腎臓以外が照射されることは末梢血球数に影響しないことが示された。

2. 放射線 15 Gy の照射後の腎臓における造血細胞の回復は線種により異なる

メダカ個体に対し 15 Gy のガンマ線、陽子線、炭素イオンビームを照射して 7、14、21 および 28 日後に腎臓組織切片を作製し、HE 染色により評価した。放射線照射 7 日後にはいずれの線種においても腎臓内で造血細胞の減少が観察された。一方、照射 14、21、および 28 日後においては、ガンマ線および陽子線照射の個体では造血細胞の回復が確認されたが炭素イオンビーム照射個体では回復は確認されなかった (Fig. 2)。

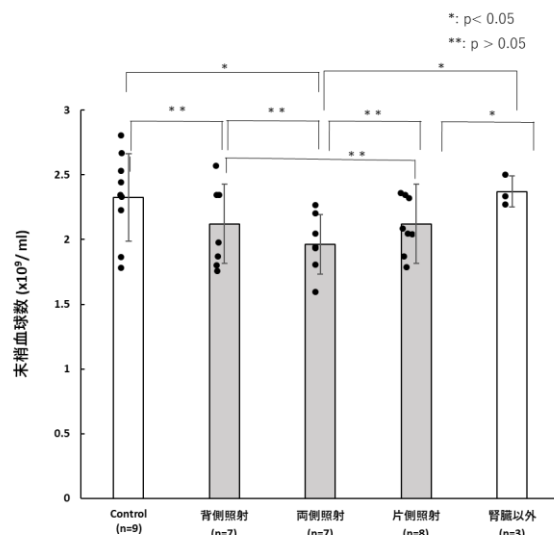


Fig. 1 片側腎臓照射、両側腎臓照射、背側照射、腎臓以外へ陽子線(15 Gy)を照射した7日後における末梢血球数

* $p < 0.05$, ** $p > 0.05$

3. 造血細胞は線量依存的に減少する

ガンマ線 (0.5、1、5、15 Gy) を照射した個体群では照射 7 日後に腎臓の造血細胞が線量依存的に減少した。一方、0.1Gy のガンマ線を照射した個体群では減少を確認できなかったことから、照射 7 日後に造血細胞が減少するガンマ線の線量の閾値は 0.1 Gy と 0.5 Gy の間にあることが示唆された。

4. フェニルヒドラジン(PHZ)による貧血処理後の造血細胞は放射線抵抗性の増殖を示す

先行研究において、貧血処理後に赤芽球が放射線抵抗性を示す結果が得られている。PHZ による貧血処理後にガンマ線 15 Gy を照射し、抗 PCNA 抗体染色によって腎臓の造血細胞の細胞増殖について検討した結果、照射 1 日後には造血細胞の増殖が活性化された。メダカの造血細胞においては放射線照射によって細胞増殖が停止していないものと考えられる。その後、照射 7 日後にも造血細胞数は回復せず、また増殖期にある細胞も減少したことから、造血細胞がガンマ線照射によって死滅したと考えられる。

一方、貧血処理の 1 日後から 8 日後まで造血細胞の増殖が活性化された。さらに、貧血処理後にガンマ線を照射した場合には、照射 1 日後に増殖期の細胞が減少したが、照射 7 日後には増殖期の細胞が増加し、造血細胞数も増加した。ガンマ線照射群とは異なり貧血後照射群ではガンマ線照射に反応して造血細胞が増殖を停止して DNA 損傷を修復し、7 日後までに増殖を再開したのと考えられる。

【結論】

本研究では造血細胞の放射線感受性について複数の条件を用いて解析し、造血細胞の放射線応答は線量依存的であること、および線種によって異なる回復を示すことが明らかになった。さらに、貧血処理によって細胞増殖が活発化している造血細胞は放射線感受性が高くなると予想されたのとは逆に、造血細胞が放射線抵抗性に細胞増殖を活発化させることが明らかになった。貧血処理が赤芽球の放射線抵抗性を誘導するとの先行研究の研究結果と矛盾しない結果であり、造血細胞の放射線応答の解明において極めて興味深い知見と言える。

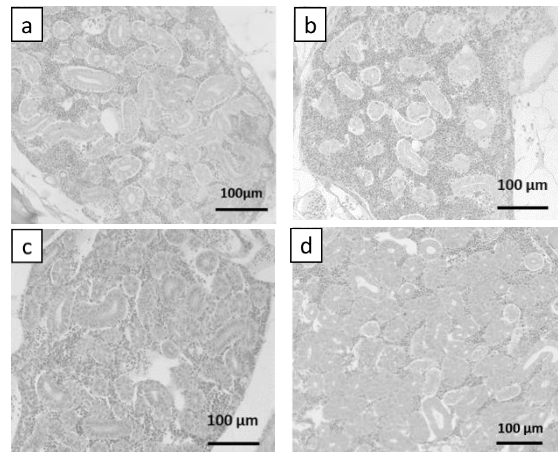


Fig. 2 15 Gy照射28日後の腎臓組織像
(a)Control (b)ガンマ線
(c)炭素イオンビーム (d)陽子線

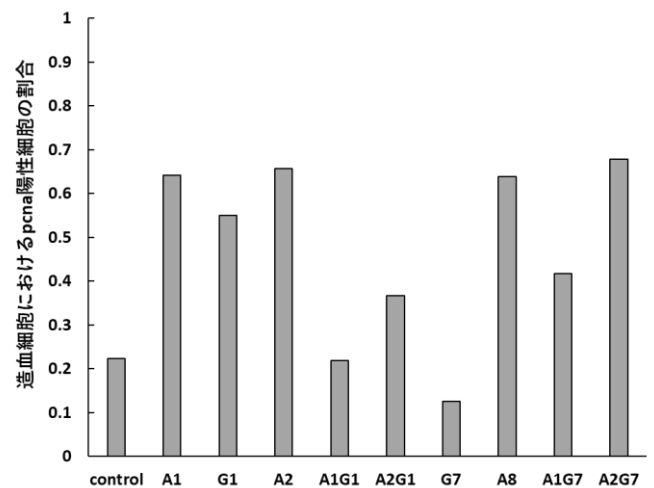


Fig3. 貧血処理およびガンマ線照射した個体の腎臓の造血系細胞に占める PCNA 陽性細胞の割合 (1次抗体1000倍希釈)

Control: 照射していないコントロール

A1: 貧血 1 日目

G1: ガンマ線(15 Gy)照射 1 日目

A2: 貧血 2 日目

A1G1: 貧血 1 日後ガンマ線(15 Gy)照射 1 日目

A2G1: 貧血 2 日後ガンマ線(15 Gy)照射 1 日目

G7: ガンマ線(15 Gy)照射 7 日目

A8: 貧血 8 日目

A1G7: 貧血 1 日後にガンマ線 (15 Gy) 照射 7 日後

A2G7: 貧血 2 日後にガンマ線 (15 Gy) 照射 7 日後