

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：27501

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K20451

研究課題名（和文）動物X線CTによる頭部及び全身照射がマウス造血幹細胞の変異に与える経時変化の比較

研究課題名（英文）Differences in Sfp1 gene deletion in hematopoietic cells after repeated low-dose X-ray partial irradiation

研究代表者

恵谷 玲央 (Etani, Reo)

大分県立看護科学大学・看護学部・助教

研究者番号：20783450

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、8週齢の雄性C3H/Heマウスの全身または頭部に1.0GyのX線を単回照射もしくは24時間間隔で100mGy×10回の繰り返し照射し、照射1週目から26週目までの諸臓器組織（大腿骨骨髓、頭蓋骨骨髓、脾臓）中の造血幹細胞数と、放射線誘発急性骨髄白血病（rAML）に必須なSfp1遺伝子の欠失をもつ造血幹細胞の割合を解析した。その結果、Sfp1遺伝子の欠失を有する造血幹細胞は諸造血組織において時間経過とともに蓄積される可能性が示唆された。また、照射後のSfp1遺伝子の欠失は、非照射と比較して単回照射によって増加し、繰り返し照射群よりも高かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CT検査のような低線量放射線の繰り返し被ばくと発がんリスクに関する詳細な情報は少ない。そこで本研究では、低線量放射線の繰り返し暴露による白血病発症のメカニズムの特徴を明らかにするため、rAMLのモデルであるC3H系マウスの全身にX線を単回照射あるいは分割で繰り返し照射し、骨髄細胞中に生成されるrAML発症に関与するSfp1遺伝子の欠失頻度とその時間変化の差異について検討した。24時間という比較的短い照射間隔をとることや一回線量を低くすることによって、遺伝子欠失を有するHSCの細胞動態（蓄積と排除）に影響を与え、rAML発症リスクに影響することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：In this study, we examined the difference in frequency of hemizygous deletion of the Sfp1 gene, an initiating event for the development of radiation-induced AML (rAML), in hematopoietic stem cells from mice irradiated with 1 Gy X-ray. 8-weeks old male C3H mice were irradiated 1Gy of total body X-ray or partially irradiated to the head. The irradiation method was single irradiation or 10 repeated irradiations of 100 mGy once at 24-hour intervals respectively. At 1, 4, 12, and 26 weeks post-irradiation, we found that the number of HSCs and the frequency of Sfp1 gene deletion from bone marrow of the femur, bone marrow of the skull and spleen cells respectively. The results suggest that HSCs with a deletion of the Sfp1 gene may accumulate in various hematopoietic tissues over time. In addition, the deletion of the Sfp1 gene after irradiation increased in the single irradiation group as compared with the non-irradiated group, and was higher than that in the repeated irradiation group.

研究分野：放射線影響

キーワード：低線量放射線 造血幹細胞 遺伝子変異 繰り返し照射

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

X線CT検査は有用な臨床検査であるが、放射線による発がんリスクの問題が存在し、特に成人に比べて子どものリスク(小児期の相対リスク、生涯確率)が高いとされる。Pearceらは小児期の子供に対する頭部X線CT検査では、検査の回数に依存して放射線の累積被ばく線量が増加し、小児白血病や脳腫瘍の発症リスクが増加することを報告した。X線CT検査1回あたりの被ばく線量は数十mGy程度であるが、頭部への部分照射であっても、繰り返し被ばくすることによって発がんのリスクが増加する可能性があることを示している。しかし、そのリスクの大きさは原爆被爆者の疫学調査と比べて過大となっており、多数回のX線CT検査を受ける小児に交絡因子が存在する可能性もあり、疫学データだけでは決定的な結論をだすことが困難と考えられる。また、古くから白血病の線量効果関係に関する動物実験が行われており、マウスにX線全身照射を行った場合に骨髄性白血病の発症率と線量がほぼ相関していることや、マウスにX線全身照射を繰り返すことで白血病発症率が上昇することなどが報告されているが、いずれも大線量を全身照射した実験であり、現時点では臨床レベルの低線量放射線、特に部分照射による発がんのリスクの修飾要因を生物学的に説明した実験データは皆無である。

2. 研究の目的

本研究では、マウス全身あるいは頭部に放射線を繰り返し照射し、放射線の部分照射あるいは全身照射によって生じる全身の生物学的影響の蓄積の程度について詳細に検討することが目的である。すなわち、照射後の諸造血組織から造血幹細胞(HSC)を単離し、放射線誘発急性骨髄性白血病(rAML)の原因となる2番染色体上の*Sfpi1*遺伝子(造血系細胞の分化に関わる遺伝子)変異について経時的に解析した。

3. 研究の方法

rAMLのモデルマウスであるC3H/HeNjcl雄マウス(8週齢)の全身あるいは頭部に照射装置を用いてX線を照射した。照射はX線1.0Gy単回照射、もしくは一回100mGyを24時間毎に10回まで繰り返し実施した。照射後1, 4, 12, 26週目をエンドポイントに設定し、マウスをイソフルラン過剰吸入により安楽死させ、諸造血組織(大腿骨骨髄、頭蓋骨骨髄、脾臓)からそれぞれHSC数を単離し、HSC数と*Sfpi1*遺伝子欠失を有するHSCの出現頻度の解析を行った。

4. 研究成果

(1) 全身にX線1.0Gy単回照射した場合のHSC数の変化について検討した。大腿骨骨髄、頭蓋骨骨髄、脾臓中のHSC数は照射後1週目に減少した。その後、照射後4, 12週目にかけて非照射群レベルまでの回復傾向を示した。

(2) 全身にX線100mGyを合計10回繰り返し照射した場合のHSC数の変化について検討した。大腿骨骨髄、頭蓋骨骨髄、脾臓中のHSC数は照射直後の照射後1週目に減少した。その後、減少したHSC数は照射4, 12週目にかけて緩やかに回復を示した。HSC数減少の程度は単回照射の場合と同様の傾向を示した。単回照射と比較して繰り返し照射の方がHSC数減少の程度は小さかったが有意差は認められなかった。

(3) 頭部にX線1.0Gy単回照射した場合のHSC数の変化について検討した。照射部位である頭蓋骨骨髄中のHSC数は照射後1週目に減少した。その後、減少したHSC数は照射後4週目にかけて非照射レベル程度まで回復した。他方、非照射部位である大腿骨骨髄及び脾臓中のHSC数はいずれのエンドポイントにおいても有意な変化は見られなかった。

(4) 頭部にX線100mGyを合計10回繰り返し照射した場合のHSC数の変化について検討した。照射部位である頭蓋骨骨髄中のHSC数は照射後1週目に減少した。その後、減少したHSC数は非照射レベル程度まで回復した。他方、非照射部位である大腿骨骨髄及び脾臓中のHSC数はいずれのエンドポイントにおいても有意な変化は見られなかった。また、単回照射と比較して繰り返し照射の方がHSC数減少の程度は小さかったが有意差は認められなかった。

(5) 全身にX線1.0Gy単回照射した場合の*Sfpi1*遺伝子欠失を有するHSCの出現頻度について検討した。大腿骨骨髄における*Sfpi1*遺伝子の欠失を有するHSCの出現頻度は非照射と比較して照射後1週目に増加した。その後、*Sfpi1*遺伝子の欠失を有するHSCの出現頻度は照射後4, 12週目にかけてわずかに増加傾向を示し、照射後26週目で減少を示した。頭蓋骨骨髄における*Sfpi1*遺伝子欠失を有するHSCの出現頻度は照射後1週目に増加し、その後時間依存的に緩やかに減少した。また、脾臓における*Sfpi1*遺伝子欠失を有するHSCの出現頻度は照射後1週目にわずかに増加し、照射26週目まで変化は見られなかった。

(6) 全身に X 線 100mGy を合計 10 回繰り返し照射した場合の *Sfpi1* 遺伝子欠失を有する HSC の出現頻度について検討した。大腿骨髄における *Sfpi1* 遺伝子の欠失を有する HSC の出現頻度は非照射と比較して照射後 1 週目に増加し、その頻度は単回照射の場合よりも低かった。その後、*Sfpi1* 遺伝子の欠失を有する HSC の出現頻度は照射後 26 週目にかけて緩やかな減少傾向を示した。また頭蓋骨髄における *Sfpi1* 遺伝子欠失を有する HSC の出現頻度は照射 1 週目にわずかに増加し、照射後 26 週目にかけて減少傾向を示した。また、脾臓における、*Sfpi1* 遺伝子欠失を有する HSC の出現頻度は照射後 1 週目から時間依存的に緩やかに増加した。

(7) 頭部に X 線 1.0Gy 単回照射した場合の *Sfpi1* 遺伝子欠失を有する HSC の出現頻度について検討した。照射部位である頭蓋骨髄における *Sfpi1* 遺伝子欠失を有する HSC の出現頻度は照射後 1 週目に増加し、その後 26 週目にかけて緩やかに減少した。

(8) 頭部に X 線 100mGy を合計 10 回繰り返し照射した場合の *Sfpi1* 遺伝子欠失を有する HSC の出現頻度について検討した。照射部位である頭蓋骨髄における *Sfpi1* 遺伝子欠失を有する HSC の出現頻度は照射後 1 週目に増加し、照射後 26 週目にかけて減少を示した。また、その時の頻度は単回照射の場合よりもわずかに大きかった。

(9) 照射方法によらず X 線の照射部位において *Sfpi1* 遺伝子の欠失を有する HSC の頻度は照射後 1 週目から 12 週目までの間に増加し蓄積されその後減少に転じる可能性が示された。*Sfpi1* 遺伝子欠失を有する HSC の出現頻度が照射後 1 週目から 12 週目にかけて増加したケースでは、放射線により誘発される末梢血細胞の減少を補うために、正常な HSC と共に *Sfpi1* 遺伝子の欠失を有する HSC が増殖したためであると考えられる。また、*Sfpi1* 遺伝子の欠失を有する HSC の頻度は繰り返し照射よりも単回照射の方が高い傾向があった。照射線量が同じ場合でも、一回線量を低くした繰り返し照射の方が遺伝子変異をもった HSC の蓄積の程度は小さくなった。しかし、頭部照射の場合、頭蓋骨髄における *Sfpi1* 遺伝子の欠失を有する HSC の頻度は照射 24 週目において、単回照射の方が繰り返し照射よりも大きく減少していた。24 時間という比較的短い照射間隔をとることや一回線量を低くすることが、遺伝子欠失を有する HSC の細胞動態に影響を与え、つまり rAML 発症リスクに影響することが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Reo Etani
2. 発表標題 Time course of the change in Sfpi1/PU.1 gene deletion in populations of hematopoietic cells following X-irradiation
3. 学会等名 16th International Congress of Radiation Research (ICRR2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------