

氏 名 藤 城 綾

学 位 の 種 類 博士 (医学)

学 位 記 番 号 博士甲第800号

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項

学 位 授 与 年 月 日 平成30年 3月 9日

学 位 論 文 題 目 Effects of acute exposure to low-dose radiation on the characteristics of human bone marrow mesenchymal stromal/stem cells

(低線量放射線が骨髄間葉系幹細胞に与える影響)

審 査 委 員 主査 教授 小島 秀人

副査 教授 丸尾 良浩

副査 教授 九嶋 亮治

論 文 内 容 要 旨

※整理番号	807	(ふりがな) 氏 名	ふじしろ あや 藤城 綾
学位論文題目	Effects of acute exposure to low-dose radiation on the characteristics of human bone marrow mesenchymal stromal/stem cells (和名：低線量放射線が骨髄間葉系幹細胞に与える影響)		
<p>【目的】</p> <p>近年、0.1 Gy 以下の低線量放射線が人体に与える影響について注目されている。本研究では骨髄に含まれる幹細胞の一種である骨髄間葉系幹細胞（mesenchymal stromal/stem cell; MSC）が低線量放射線照射によって受ける機能的影響を明らかにすることを目的とした。</p> <p>【方法】</p> <p>米国 AllCells 社より購入した健常ヒト全骨髄液（異なる 5 名分の骨髄液を使用し、それぞれロット A～E とする）から Ficoll®を用いた遠心分離法で単球層を分離回収し、更に播種法を用いて既報（参考文献 1）の通り MSC を分離培養した。また同じ方法で分離回収した骨髄単球層から磁気ビーズ法を用いて CD34⁺細胞（造血幹細胞 hematopoietic stem cell ; HSC）を単離した。ガンマ線照射装置を使って MSC に 0.1 Gy の γ 線を線量率 0.8 Gy/分で照射し、低線量放射線が照射後急性期（照射 24 時間後）に MSC の機能（増殖能、分化能、HSC 支持機能）に与える影響を非照射 MSC と比較した。MSC の分化能への影響は、照射 MSC を骨分化、脂肪分化培地で分化誘導することで、HSC 支持機能評価は、照射 MSC と CD34⁺細胞を共培養し、フローサイトメトリー法でそれぞれ評価した。更に、リアルタイム PCR 法を用いて照射 MSC 中の HSC 支持サイトカイン・ケモカインの mRNA の発現を非照射 MSC と比較評価した。</p> <p>【結果】</p> <p>ロット A では 0.1 Gy の γ 線照射を受けた MSC は非照射 MSC と比較して照射後 14 日目に増殖遅延を示し、21 日目には非照射と同等まで回復した。ロット B では照射 MSC と非照射 MSC との間に増殖の差は見られなかった。</p> <p>HSC 支持機能評価では、ロット A の照射 MSC と CD34⁺細胞の共培養実験において</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2 千字程度でタイプ等を用いて印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

CD34⁺CD38⁺分画の細胞が、非照射 MSC との共培養と比較して増加していた。リアルタイム PCR 法による HSC 支持サイトカイン・ケモカインの mRNA の発現の比較では、ロット A において stem cell factor (SCF)、FMS-like tyrosine kinase 3 ligand (Flt3L) の mRNA の発現が低下し、interleukin (IL)-6 の mRNA の発現が上昇していた。

照射 MSC の骨分化能、脂肪分化能の評価では、ロット A の照射 MSC で非照射 MSC と比較してミネラル化（骨分化）の低下と脂肪細胞分化細胞数の減少傾向が見られたが有意差はなかった。その他のロットでは、ロット D の照射 MSC の脂肪細胞分化が被照射 MSC と比較して亢進していたが、それ以外のロットでは照射 MSC と非照射 MSC とで差は見られなかった。

ロット A で見られたような照射 MSC における一過性の増殖遅延、CD34⁺細胞との共培養における CD34⁺CD38⁺分画の細胞の増加、そして SCF、Flt3L の mRNA の発現低下と IL-6 の mRNA の発現上昇は、5 ロット中では、ロット C において同様の結果が見られた。残りのロット B、D、E では照射 MSC と非照射 MSC でこれらの実験で差は見られなかった。

ロット A および C において照射後慢性期（照射 2～3 週間後）の MSC を用いて同様の実験をしたところ、急性期の照射 MSC で見られた CD34⁺細胞との共培養における CD34⁺CD38⁺分画の細胞の増加、そして SCF、Flt3L の mRNA の発現低下と IL-6 の mRNA の発現上昇は、慢性期の照射 MSC では見られなくなっていた。

【考察】

5 ロット中、2 ロットにおいて 0.1 Gy の γ 線照射によって一過性の増殖遅延が見られた。マイクロアレイ実験において、細胞周期に関する遺伝子発現の低下がみられたことから、低線量放射線照射によって細胞周期が遅滞し、一過性の増殖遅延を来したものと推察された。

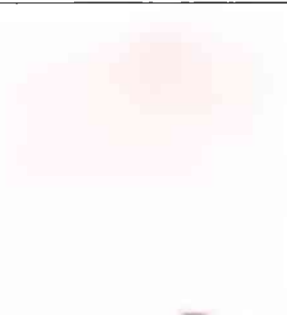
増殖遅延を示した 2 ロットでは IL-6 の mRNA の発現上昇が見られた。参考文献 2 でも報告されているように IL-6 は細胞老化を示唆するマーカーの一つであることから、0.1 Gy を照射した MSC では細胞老化が誘導されている可能性が考えられた。また CD34⁺細胞との共培養実験においてこの 2 ロットの照射 MSC は CD34⁺CD38⁺分画の細胞増幅が促進していたが、IL-6 は HSC を骨髄球系へ分化誘導することが知られており（文献 3）、CD34⁺CD38⁺は骨髄球系へやや分化した造血幹前駆細胞であることから、この CD34⁺細胞の変化は IL-6 の発現上昇の影響を受けたものと推察された。

これらの変化はいずれも低線量放射線照射後 3 週間では見られなくなっていた。また他 3 ロットではこれらの変化は見られなかった。

【結論】

低線量放射線 (0.1 Gy) は一部の MSC に機能低下をもたらすものの、その影響は一過性であることが分かった。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	807	氏 名	藤城 綾
論文審査委員			
<p>（学位論文審査の結果の要旨）※明朝体 11 ポイント、600 字以内で作成のこと</p> <p>放射線診断機器の利用増加や原発事故による放射能汚染により、0.1Gy 以下の低線量放射線の人体に及ぼす影響に社会的関心が強まっている。本論文では、骨髓に含まれる幹細胞の 1 つである骨髓間葉系幹細胞（mesenchymal stromal/stem cell; MSC）が低線量放射線によって受ける機能的な影響について、米国 AllCells 社より購入した健常ヒト骨髓液 5 名分（5 つのロットとする）より抽出した MSC を用いて研究し、以下の所見を得た。</p> <ol style="list-style-type: none">1) 5 ロット中、2 ロットにおいて 0.1Gy γ 線照射によって一過性の細胞増殖遅延が見られた。この原因として細胞周期の遅延が考えられた。2) 上記で見られた 2 ロットの細胞周期の遅延は、同時に細胞老化のマーカーである IL-6 が上昇していたことから、細胞老化を促進する所見と考えられた。3) 異常を示した 2 ロットの照射 MSC は造血幹細胞との共培養により、造血幹細胞の骨髓球系への分化を誘導した。4) 上記の変化は照射後 3 週間で見られなくなり、低線量放射線は一部の MSC の機能低下をもたらすが、その作用は一過性であると考えられた。 <p>本論文は、低線量放射線（0.1Gy）による骨髓間葉系幹細胞の影響について新たな知見を与えたものであり、また最終試験として論文内容に関連した試問を実施したところ合格と判断されたので、博士（医学）の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">（総字数 589 字）</p> <p style="text-align: right;">（平成 30 年 1 月 29 日）</p>			