

番号	影響 008
大項目	発がん
中項目	メカニズム
小項目	移植実験
タイトル	マウスの放射線誘発胸腺リンパ腫発生のメカニズム Thymic lymphomagenesis induced by fractionated radiation exposure in mice
キーワード	放射線誘発胸腺リンパ腫、分割照射、骨髄移植、胸腺移植、B10.Thy 1 コンジェニックマウス
概要	
<p>低線量放射線の発がんリスクを正しく評価するためには、放射線によって誘発されるがん発生のメカニズムを理解することが不可欠である。本研究では、HS Kaplan による X 線分割照射胸腺リンパ腫（リンパ性白血病）発生実験モデルを用い、発がん機構の解明研究を行った。</p> <p>ドナー細胞とホスト細胞を見分けるために細胞表面の遺伝的マーカー Thy 1 を利用し、骨髄細胞および胸腺細胞の移植実験により以下の結果を得た。① 分割照射により、胸腺細胞の大部分 (>90%) が死に、骨髄の T 細胞前駆細胞数が著しく減少し、胸腺内の未熟な胸腺細胞の増殖・分化の停止状態が 2~3 週間続く。② 分割照射終了後 1 週~2 週の間、「前がん段階」の細胞が現れる。③ その間、胸腺内の微小環境は大きく変化する。④ 分割照射終了後 1 日以内に大量の正常骨髄細胞の移植により、胸腺は正常に戻り、胸腺リンパ腫の発生も抑えられる。⑤ 移植骨髄細胞数が少ないとホスト細胞由来の胸腺リンパ腫が発生する。⑥ 分割照射後 1 ヶ月目の骨髄細胞を致死線量照射マウスに移植すると高率に胸腺リンパ腫（ホスト細胞由来：>75%）が発生する。これらの結果は、分割照射による胸腺および骨髄の傷害が、胸腺環境の劇的な変化および、胸腺内で生き残った未熟な胸腺細胞の増殖・分化の停止と腫瘍化に大きな役割を果たすことを示唆している。</p>	
詳細	
<p>HS Kaplan は放射線の分割照射により胸腺リンパ腫（リンパ性白血病）を誘発する実験モデルを確立した。この実験モデルでは、生後 33 ± 3 日目から 1.6 Gy の X 線を 8 日おきに 4 回照射すると、感受性系統のマウスでは照射終了後 1 年以内に 90% 以上の頻度で胸腺リンパ腫を発生する。この腫瘍にはその発生のメカニズムを考える上で重要な意味をもつ 2 つの著しい特徴がある。その 1 つは、照射中に骨髄を鉛で遮蔽、または照射終了後に正常なドナーマウスから大量の骨髄細胞を移植すると腫瘍の発生が抑えられるということ、もう一つは照射前に標的臓器である胸腺を除去しておくとも腫瘍は発生しなくなるが、そのような個体に照射終了後に正常な新生仔マウスの胸腺を移植すると、放射線照射されていない移植胸腺からドナー細胞由来のリンパ腫が発生することである。Kaplan はこの結果を、照射によって活性化された内在性のがんウイルスが移植胸腺内の未熟な胸腺細胞に感染して、これらの細胞をがん化させるとする「内在性ウイルス活性化モデル」を提唱した。</p>	

本研究では、B10.Thy 1 コンジェニック系マウスを使い、ドナー由来細胞と宿主由来細胞が容易に見分けられるような細胞表面の遺伝的マーカーの違い (Thy 1.1 または Thy 1.2) を利用した骨髄細胞および胸腺の移植実験を行い、Kaplan により 1950 年代に報告されていた上記の実験事実を再確認し、さらに次のいくつかの重要な事実を明らかにした。

- ① 分割照射マウスでは、大部分 (>90%) の胸腺細胞が死ぬことによって胸腺細胞の枯渇が起こるだけでなく、骨髄では T 細胞前駆細胞の数が著しく減少し、その結果として胸腺組織の再生は著しく妨げられる。そのような環境の中で、未熟な胸腺細胞の多くは増殖を停止するとともに成熟 T 細胞への分化も停止する。その状態が2~3週間もつづく。
- ② 分割照射が終了後1週から2週の間、分化を停止した未熟な胸腺細胞集団の中に「前リンパ腫細胞」とよばれる「前がん段階」へ変化したと考えられる細胞が現れる。「前リンパ腫細胞」は胸腺以外の環境では増殖できないが、胸腺内の環境では、ゆっくりと増殖し、2~3ヶ月で、自律増殖能と転移能を獲得した「悪性」の胸腺リンパ腫細胞に進展する。
- ③ その間、胸腺内では胸腺細胞の増殖と分化の制御に関わりをもつ幾種類かのサイトカイン産生 (IL-7, TNF- α など) の劇的な増加が起こり、照射後に再生してくる未熟な胸腺細胞を取りまく微小環境は大きく変化する。
- ④ 分割照射終了後1日以内に正常なドナーマウスから大量の骨髄細胞 (5×10^7) を移植すると、分割照射マウスの胸腺は2週間以内に完全に照射前の正常な胸腺の組織像に回復し、前リンパ腫細胞の発生も、胸腺リンパ腫の発生も抑えられる。
- ⑤ 移植する骨髄細胞の数が足りない場合には、胸腺リンパ腫の発生を十分に抑えることはできないが、この場合、胸腺内に移行したドナー細胞由来の胸腺細胞から胸腺リンパ腫が発生する例は皆無であった。Kaplan のいう放射線による内在性ウイルス活性化説が正しければ、ドナー細胞由来の胸腺リンパ腫が発生するはずである。
- ⑥ X 線を4分割照射後1ヶ月目のマウスの骨髄細胞を致死量の放射線を照射したホストマウスに移植すると高率に胸腺リンパ腫を発生するが、その大部分 (>75%) はホスト細胞由来であった。非照射マウスの正常骨髄細胞を移植した場合にはリンパ腫はほとんど発生しない。このことは、4分割照射マウスの骨髄中の T 前駆細胞の枯渇により胸腺の回復が遅れることが、胸腺リンパ腫発生に重要なかわりをもっていることを示唆している。

これらの事実は、分割照射による胸腺および骨髄の傷害が、胸腺環境の劇的な変化をもたらすと同時に、胸腺内に生き残った未熟な胸腺細胞の増殖・分化の停止とそれらの細胞の腫瘍化に大きな役割を果たしていることを示唆している。この解釈は Kaplan が提唱した「内在性ウイルス仮説」に対して「分化停止による胸腺リンパ腫発生モデル」とでもよぶことができる。

なお、照射前に胸腺を摘除し、照射終了後に正常な新生仔マウス胸腺を移植すると移植胸腺にドナー細胞由来のリンパ腫が発生する理由は、移植胸腺が生着するまでの間に、胸

腺細胞の大部分はアポトーシス（プログラミングされた細胞死）を起こして死滅し、結果的に照射によって胸腺細胞が枯渇したのと同じ状態になることによる。ホストマウスは4分割照射されているので、結果的には胸腺を摘出することなく4分割照射されたのと同じメカニズムで、移植胸腺内に生き残った未熟な胸腺細胞が腫瘍化することになる。いずれにしても、この実験モデル系では放射線による標的細胞のヒットは放射線発がんにおいて一義的な意味をもっていないこと、即ち放射線が直接にリンパ腫細胞をがん化させたのではないことを示している。

[解説：B10.Thy 1 コンジェニックマウス]

マウスの胸腺細胞やT細胞にはThy 1.1 およびThy 1.2 と呼ばれる2種類の抗原型があり、各マウス系統は1対の対立遺伝子 *Thy 1^a* または *Thy 1^b* のいずれかによってコードされている。これらの抗原に対する抗体を利用すると、Thy 1.1 型およびThy 1.2 型の細胞を容易に区別することができる。Thy 1 コンジェニックマウスというのは、Thy 1 遺伝子を含む染色体の限られた領域以外は遺伝的に共通になるように、10 世代以上にわたる反復戻し交配によって育成された特別の組み合わせをいう。この組み合わせのマウス間では相互に細胞あるいは組織の移植が可能で、特に照射と組み合わせで移植する場合には、移植されたドナー由来とホスト由来の胸腺細胞およびT細胞を容易に区別することができる。

図表

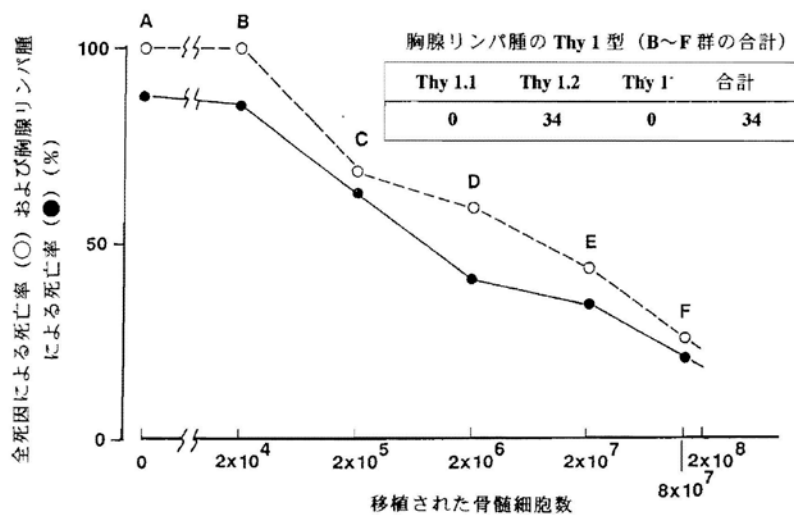


図1 X線分割照射後1日目のB10.Thy 1.2系マウスに、正常なB10.Thy 1.1系マウスからの骨髄細胞($2 \times 10^4 \sim 8 \times 10^7$)を移植後10ヶ月間の胸腺リンパ腫発生率(●)と死亡率(○)。
 A, 対照群; B, 2×10^4 細胞移植群; C, 2×10^5 細胞移植群; D, 2×10^6 細胞移植群; E, 2×10^7 細胞移植群; F, 8×10^7 細胞移植群。図中のボックス内には、この実験中に発生した胸腺リンパ腫のThy 1型が示されているが、その結果を見ると、すべてがホスト(Thy 1.2)型であってドナー(Thy 1.1)型のは一例もなかったことが分かる。(Sado, T., H. Kamisaku, E. Kudo, *J. Radiat. Res.* 32, Suppl. 2, 168, 1991より引用)

(佐渡：放射線科学 46 (2003) より)

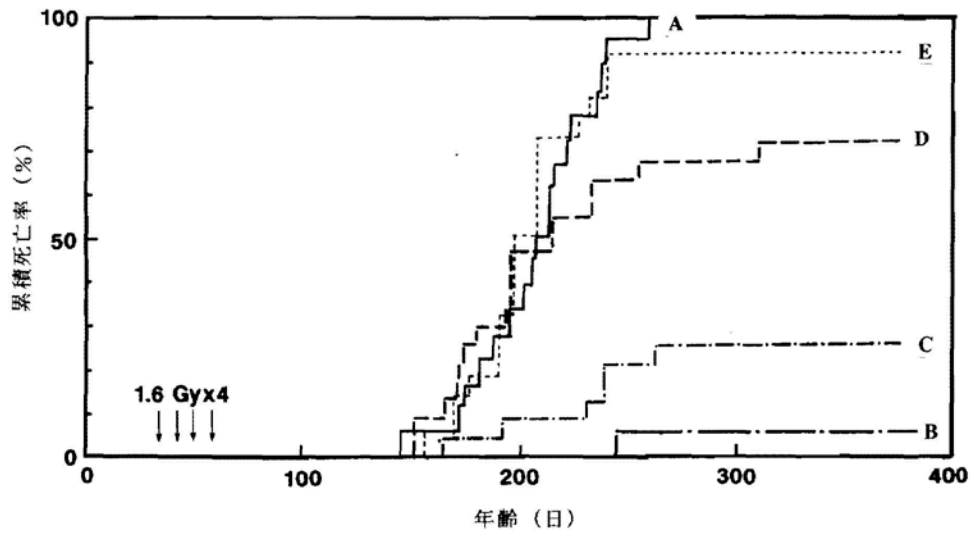


図2 骨髄移植の時期がX線分割照射によって誘発される胸腺リンパ腫発生率(累積死亡率)に及ぼす影響。各群24匹のB10.Thy.1.2系マウスに、X線を分割照射直後(0日目)、1日目、10日目および30日目に、正常なB10.Thy.1.1マウスからの骨髄細胞(8×10^6)を移植後、約300日間の累積死亡率を調べた。死因の大部分は胸腺リンパ腫によるものであった。A, 対照群; B, 0日目に移植した群; C, 1日目に移植した群; D, 10日目に移植した群; E, 30日目に移植した群(Sado, T., H. Kamisaku, E. Kudo, *J. Radiat. Res.* 32, Suppl. 2, 168, 1991より改写)

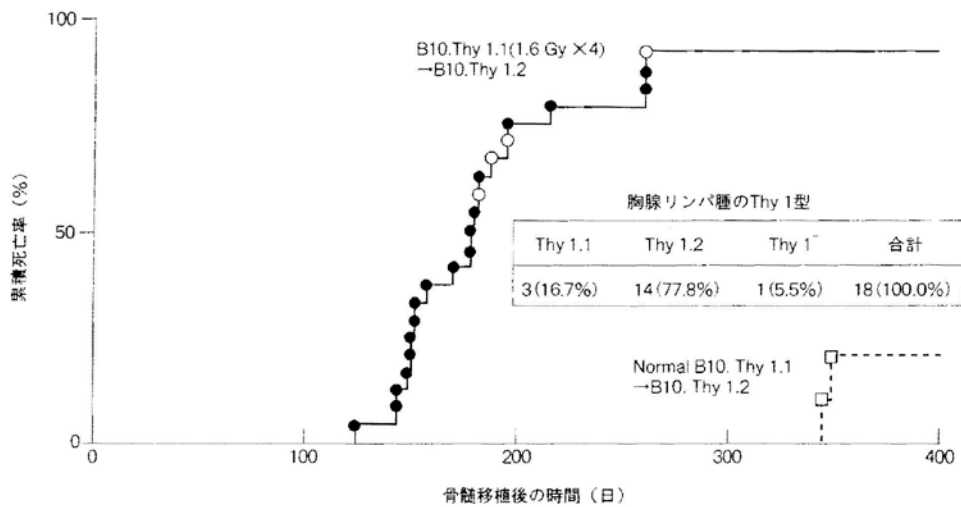


図3 致死量の放射線照射後、分割照射マウス由来の骨髄細胞の移植による胸腺リンパ腫の発生。B10.Thy.1.2マウスに9Gy全身照射後、数時間以内にX線を分割照射されたB10.Thy.1.1マウス由来の骨髄細胞を移植し、それらのマウスを終生飼育した(B10.Thy.1.1[1.6Gy \times 4] \rightarrow B10.Thy.1.2; ●, ○)。対照群のマウスについては、9Gy全身照射後、数時間以内に正常なドナーマウスからの骨髄細胞(2×10^6)を移植した(B10.Thy.1.1 \rightarrow B10.Thy.1.2; □)。黒印(●)は胸腺リンパ腫による死亡を、白印(○, □)は胸腺リンパ腫以外の死因による死亡を示す。(Sado, T., H. Kamisaku, E. Kudo, *J. Radiat. Res.* 32, Suppl. 2, 168, 1991より改写)

(佐渡：放射線科学 46 (2003) より)

文献

1. Muto M, T Sado, I Hayata, H Kamisaku, F Nagasawa, E Kubo, Reconfirmation of indirect induction of radiogenic lymphomas using thymectomized, irradiated B10 strain mice grafted with neonatal thymuses from Thy 1 congenic donors. *Cancer Res* 43, 3822-3827, 1983
2. Muto M, E Kubo, Sado T. Cellular events during radiation-induced thymic leukemogenesis in mice: abnormal cell differentiation in the thymus and defect of thymocyte precursors in the bone marrow after split-dose irradiation. *J Immunol* 134, 2026-2031, 1985
3. Muto M, E Kubo, Sado T. Development of prelymphoma cells committed to thymic lymphomas during radiation-induced thymic lymphomagenesis in B10 mice. *Cancer Res* 47, 3469-3472, 1987
4. Sado T, H Kamisaku, E Kubo. Bone marrow-thymus interactions during thymic lymphomagenesis induced by fractionated radiation exposure in B10 mice: Analysis using bone marrow transplantation between Thy 1 congenic mice. *J Radiat Res* 32, Suppl. 2, 168-180, 1991
5. Sado T. Experimental radiation carcinogenesis studies at NIRS. Proceedings of the International Conference on Radiation Effects and Protection, March 18-20, 1992, Mito, Japan, pp. 36-42, 1992
6. 佐渡敏彦、放射線と免疫、老化、がん (XIX) .6. 放射線発がん5. 放射線科学 46 (2), 44-52, 2003
7. 佐渡敏彦、放射線と免疫、老化、がん (XIX) .7. 放射線発がん6. 放射線科学 46 (5), 156-164, 2003
8. 佐渡敏彦、放射線と免疫、老化、がん (XIX) .8. 放射線発がん7. 放射線科学 46 (8), 266-275, 2003