

Title	全身照射マウス肝におけるアポトーシス発現の経時的変化
Author(s)	寺島, 正子
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 55(9) p700-p.702
Issue Date	1995-08-25
oaire:version	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/17270
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

全身照射マウス肝におけるアポトーシス発現の経時的变化

寺島 正子¹⁾ 小川 恭弘¹⁾ 濱田 典彦¹⁾ 西岡 明人¹⁾ 目崎 一成¹⁾
 猪俣 泰典¹⁾ 吉田 祥二¹⁾ 西原 利治²⁾ 瀬口 春道³⁾

1) 高知医科大学放射線医学教室 2) 同第一内科学教室
 3) 同第二解剖学教室

Development of Apoptosis Induced by Whole-body Irradiation in Murine Liver

Masako Terashima¹⁾, Yasuhiro Ogawa¹⁾,
 Norihiko Hamada¹⁾, Akihito Nishioka¹⁾,
 Kazunari Mesaki¹⁾, Taisuke Inomata¹⁾,
 Shouji Yoshida¹⁾, Toshiji Saibara²⁾
 and Harumichi Seguchi³⁾

Apoptosis is known to be induced by radiation. However, the correlation between radiation-induced apoptosis and radiation injury in tumors *in vivo* has been unclear. In this paper, we report the study of apoptosis induced by whole-body irradiation using an immunohistochemical technique to detect DNA fragmentation in murine liver.

A dose of 7 Gy was employed as LD_{50/30}. DNA fragmentation was observed 30 min after radiation, and it peaked between 1 and 6 hours. DNA fragmentation could be detected 48 hours after radiation in capillary endothelium.

This study was able to reveal the development of radiation-induced apoptosis in the liver by detecting DNA fragmentation *in situ*.

はじめに

細胞死の一つの形態でありDNAの断片化を伴うプログラム死であるアポトーシスは、放射線照射で誘導されることはよく知られている¹⁾⁻⁵⁾。

アポトーシスの検出については、HE染色によるアポトーシス小体の検出や抗fas抗体を用いた染色、DNAラダーによる検討が主であった。われわれは、クロマチンの断片化を検出する方法⁶⁾を用いて、比較的均一な組織であり正常では核分裂像が少ない肝を対象に全身照射によるアポトーシスの誘導を検討した。

方 法

7週齢の雌C3H/HeマウスをSPF室で飼育し、⁶⁰Co γ線(線量率114cGy/min)を用いて無麻酔下で全身に7Gy照射した。照射前、および照射30分後、1、2、3、6、12、24、48時間後に屠殺し、各臓器を摘出し液体窒素中にて凍結した。クライオスタットで6μm厚の連続薄切切片を作成し、Fragmented genomic DNAの検出をOncor社のApoptTag *in situ* detection Kitを用いたperoxidase法による直接免疫組織化学法にて行った。また、同時に7Gy照射したマウス10匹を生存期間観察群として連日観察した。

結 果

照射したマウスは照射後17日までに半数が死亡しその後の死亡はなく、7GyはLD_{50/30}に近似する照射量として妥当と考えられた。

Fragmented DNAを検出する免疫組織化学染色の結果をFig.1に示す。照射前には陽性細胞はまったく見られないが、照射後30分より陽性細胞が出現し始め、1時間から6時間までplateauが続いた。以降はしだいに減少を示し、48時間後では血管内皮細胞が染色された。

HE染色では照射後30分ではアポトーシス小体の出現はほとんどなく、1時間後よりわずかに出現した(Fig.2)。照射後48時間にいたるまで、間質への細胞浸潤は見られず、壊

Research Code No. : 403.9

Key words : Apoptosis, Whole-body irradiation,
 Fragmented DNA Immunohistochemical stain

Received Aug. 8, 1994; revision accepted Apr. 28, 1995

- 1) Department of Radiology, Kochi Medical School
 2) 1st Department of Internal Medicine, Kochi Medical School
 3) 2nd Department of Anatomy, Kochi Medical School

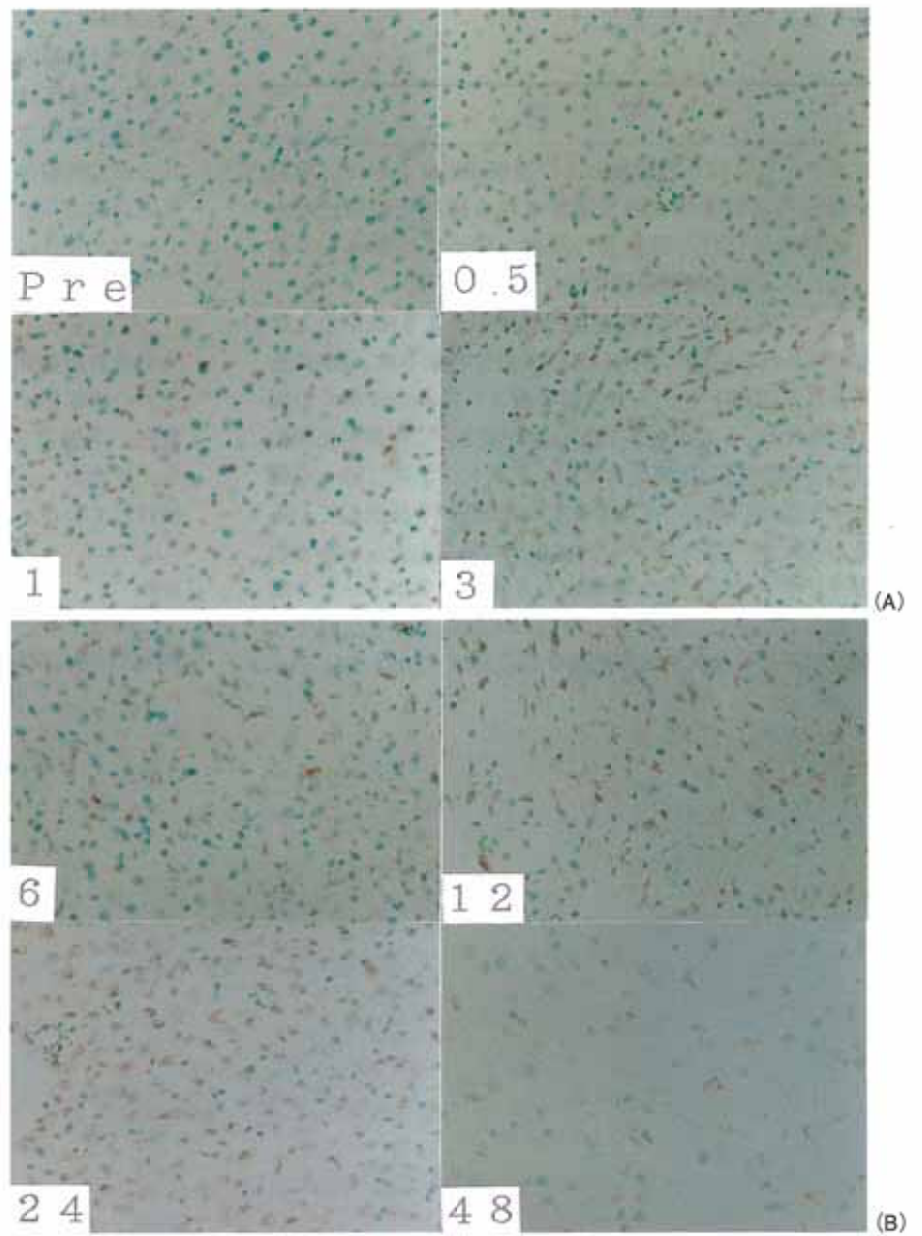


Fig.1 Immunohistochemical appearance of the liver pre- and 0.5, 1, 3, 6, 12, 24, 48 hours after whole-body irradiation with 7 Gy by direct immunoperoxidase detection of digoxigenin-labeled genomic DNA ($\times 320$)

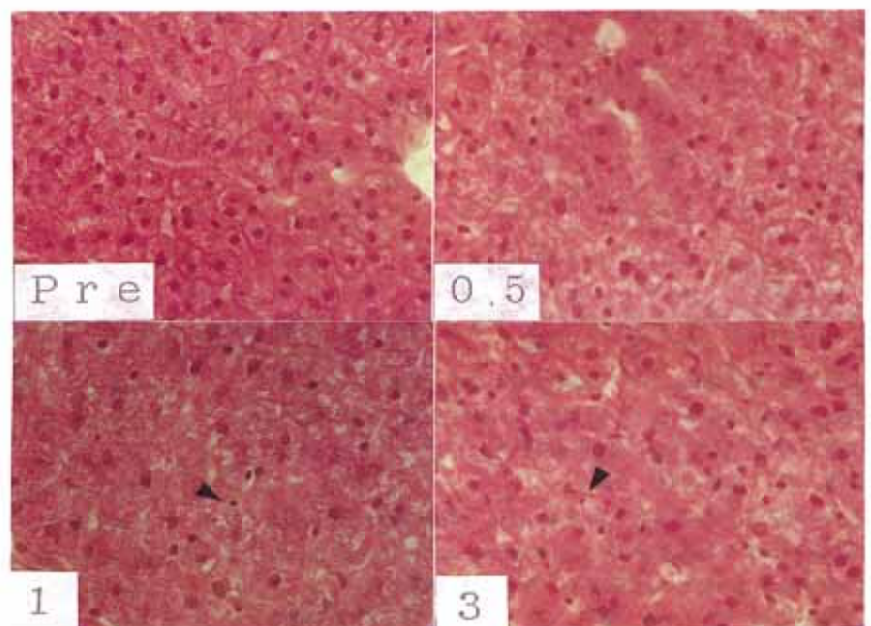


Fig.2 Light microscopic appearance of the liver pre- and 0.5, 1, 3 hours after whole-body irradiation with 7 Gy (HE stain, $\times 320$). Arrow head shows apoptotic body.

死巣も出現しなかった。

考 察

アポトーシスは正常組織および腫瘍組織において、放射線を含む外部刺激によって誘導される細胞死の形式である。形態的には核と細胞質の凝縮・縮小を特徴としており、これらの変化は数時間で完了してしまう¹⁾。

今回の実験では、7Gyの全身照射後30分よりHE染色上は濃縮が見られない核でもDNAの断片化が検出され、HE染色で見られるアポトーシス小体の頻度よりはるかに多くの細胞で見られた。6時間後までplateauが続き、この間染色部位は核から細胞質に広がっており、アポトーシスに陥った細胞断片を周囲の細胞が貪食するという経過¹⁾を反映していると考えられた。DNAラダーやHE染色で検討した*in vivo*での報告^{1), 3), 5)}では照射後1時間から6時間でアポトーシス誘導が起こるとされているが、今回の実験結果から、肝では光顕上アポトーシス小体が出現するより早くDNA fragmen-

tationが起こっていることが明らかになった。さらに、48時間後では血管内皮細胞が染色され、HE染色では核の膨化が出現し、壊死が始まっていると考えられた。7Gy照射後1週間程度のマウス肝では、壊死巣が散在し、細胞浸潤も見られるが、照射後2日以降、血管障害によってしだいに炎症反応が起こっていくと考えられた。

結 語

全身放射線照射モデルを用いて肝組織におけるアポトーシスの誘導を*in situ*で検出し、その経時的変化を検討した。現在、各臓器におけるアポトーシスの誘導を検討中であり、アポトーシス誘導を制御する癌関連遺伝子についても検討している。

謝辞

この実験を行うに当たり、ご協力いただいた高知医科大学附属病院放射線治療部の横田典和技師に深謝の意を表します。

文 献

- 1) Kerr JFR, Winterfeld CM, Harmon BV : Apoptosis ; Its significance in cancer and cancer therapy. *Cancer* 73 : 2013-2026, 1994
- 2) 大山ハルミ, 山田 武 : 放射線感受性とアポトーシス. *最新医学* 49 : 1145-1151, 1994
- 3) Meyn RE, Stephens LC, Ang KK, et al : Heterogeneity in the development of apoptosis in irradiated murine tumors of different histologies. *Int J Radiat Biol* 64 : 583-591, 1993
- 4) 赤木由紀夫, 広川 裕, 藤田 実, 他 : 放射線高感受性腫瘍におけるアポトーシス. *日本医放会誌* 53 : 1082-1084, 1993
- 5) Mirkovic N, Hunter N, Meyn RE, et al : Radiation-induced apoptosis in a murine lymphoma *in vivo*. Program & Abstracts of 42nd Annual Meeting of the Radiation Research Society 42 : 238, 1994
- 6) Mijsman JH, Jonker RR, Keijzer R, et al : A new method to detect apoptosis in paraffin sections ; *in situ* end-labeling of fragmented DNA. *J Histochem Cytochem* 41 : 7-12, 1993