炎症マウスにおける造血幹細胞

青木 功・外山圭助*

Hematopoietic stem cells of mice in inflammation
Isao Aoki • Keisuke Toyama*

炎症や感染症などにおいて貧血を合併することは周知の事実であるが、その貧血の機序の詳細は解明されておらず、特に炎症時の造血幹細胞動態の研究は少ない。今回は炎症実験モデルとしてテレピン油腫瘍マウスを作成し、その骨髓および脾造血幹細胞の測定を行ったので報告する。

方 法

実験動物は C 57 BL/6 マウス (雌性, 8~19週齢), 1群6~10匹を用いた。炎症処置として、テレピン油 (turpentine oil) を大腿部に筋注 (7.5 ml/kg) し、1週ごとに末梢血白血球数、Ht 値、骨髓ならびに脾造血幹細胞を測定した。対照として同量の生食水をマウス大腿部に投与した。

造血幹細胞の測定は Iscove らの方法に準じ、すべてメチルセルロース法 (FCS 30% 含 α -medium) にて施行した。骨髓および脾 CFU-C は L cell conditioned medium 10% 添加にて7日間培養, CFU-E はエリトロポエチン (erythropoietin, Ep, sheep step III, Connaught 社, Canada) 0.5単位添加にて2日後, BFU-E は Ep 2.0単位添加して10日後, CFU-mix は Ep 2.0単位とマウス脾細胞培養上清を添加して10日間培養後に測定を行った。

結果と考察

テレピン油投与2~5日後、局所の腫脹出現、7~10日目ごろより大腿部に径8~10mmのほぼ球形を呈する腫瘍が形成された。末梢血白血球数は対照マウス $5,500 \pm 300$ (/mm³) [平均±標準誤差] に比し、テレピン油投与にて1週目 $9,800 \pm 900$, 2週目 $10,500 \pm 700$ と増加を示し、3~5週のやや軽減するも増加は持続した (図1)。それに対し一大腿骨の骨髓 CFU-C は1~2週と軽度増加を示した (図1)。一方、脾 CFU-C はテレピン油投与後1~2週で対照マウスに比し著増を示した (図2)。

図1 WBC and CFU-C (/femur) of turpentine treated mice

図2 CFU-C of spleen in turpentine treated mice

したがって、テレピン油投与による末梢血白血球数の増加は、前駆細胞である CFU-C の骨髓および脾での増加に起因するものと考えられた。末梢血 Ht 値は対照マウスが 39.7 ± 0.5 (%) であるのに比し、1週目 35.9 ± 1.1 , 2週目 33.7 ± 2.0 , 3週目 36.5 ± 1.1 と低下し、5週目に回復するも、なお低値を示していた (図3)。

赤血球系前駆細胞 CFU-E は一大腿骨にて、1週目より著減を示し、2~5週まで減少を示した [対照: 53.0 ± 6.7 ($\times 10^3$); 1週目: 20.8 ± 1.1 ; 2週目: 27.2 ± 9.0 ; 3週目: 29.8 ± 7.1 ; 5週目: 43.9 ± 19.5] (図4)。

一方、脾 CFU-E は1~3週目で増加を示したが、一大腿骨の造血は全身の造血のおよそ8%と考えられてい

* Department of Internal Medicine, School of Medicine, Keio University 慶応義塾大学医学部内科学教室

図3 hematocrits of turpentine treated mice

るので³⁾、一大腿骨の CFU-E 量より全身骨髄の CFU-E 量を換算して減少量を算出すると、脾での増加を差し引いても全身の CFU-E は 1～5 週にかけてすべて対照マウスより減少することが確認された。

CFU-E より 1 段階幼若な CFU-E についても測定を行ったが、BFU-E 同様骨髄では著減を示し、脾で増加を示した。CFU-E も全身骨髄に換算して計算すると、骨髄での減少のほうが脾での増加を上まわっており、全身の BFU-E 量はテレピン油投与により 1～5 週において減少を示した。

また CFU-E, BFU-E よりさらに幼若で、赤血球系、白血球系、粒球系の 3 系統いずれにも分化しうる能力をもつ多能性幹細胞の一種と考えられる CFU-mix について測定を行った。一大腿骨の CFU-mix は、1 週目 10 ± 9 (% of control) と著減を示し、2 週目 52 ± 18 (%), 3 週目 119 ± 18 (%), 5 週目 82 ± 31 (%) と、2 週目以降徐々に正常化した。骨髄で CFU-mix が減少したのは、おそらく局所へ白血球を動員する目的で CFU-mix から

図4 CFU-E (/femur) of turpentine treated mice

CFU-Cへ急速に分化が進んだことによると考えられる。また、その結果として赤血球系の BFU-E, CFU-E の減少、さらに貧血へとつながったものと推察される。

文 献

- 1) Iscove, N.N., Sieber, F., Winterhalter, K.H.: Erythroid colony formation in cultures of mouse and human bone marrow; analysis of the requirement for erythropoietin by gel filtration affinity chromatography on agarose-concanavalin-A. *J. Cell. Physiol.* 83: 309-320, 1974.
- 2) 外山圭助, 青木 功: 赤血球系細胞の分化. *細胞* 14: 508-513, 1982.
- 3) Vácha, J., Holá, J., Dungal, J., Znojil, V.: The distribution of erythropoiesis over the various anatomical regions of the mice. *Exp. Hematol.* 10: 768-773, 1982.