

# 胚性幹細胞染色体の安定性評価

金城康人<sup>\*1)</sup>、宮崎則幸<sup>\*1)</sup>

## 1. はじめに

胚性幹細胞 (Embryonic Stem Cell; 以下 ES 細胞) とは, 胚盤胞 (受精後発生を開始して約 6 日後の, 子宮内着床前後の初期胚) の内部細胞塊を構成する細胞である。この細胞は培養系で無限増殖し, またどのような組織にも分化しうる (分化全能性をもつ) という特徴から, 事故や病気でその機能を失った臓器再生の切り札として期待され, その実用化の研究が世界規模で活発に進められている。しかし, 個体発生の芽を犠牲にするという倫理上の問題に加え, 癌化をはじめとする安全上の問題も指摘されている。そこで本研究ではこの安全上の問題に着目し, マウス ES 細胞にストレス負荷後, 癌化との関連の深い染色体の安定性について検討した。

## 2. 実験方法

ES 細胞は樹立・市販されているマウス 129Sv 株, また対照細胞にはマウス皮膚繊維芽細胞由来 m5S 細胞(京都大学 立花章博士より分与)を用いた。実験の概要は図 1 に示す。ストレス源として Co-60 線を用いた。また染色体安定性の指標として, 染色体異常の出現率ときわめてよい相関を示すことが既知の小核の出現頻度を選んだ。まず ES 細胞に 0 ~ 6.72Gy の 線を照射後, 細胞を希釈して培地に蒔き, 37℃, 5% 炭酸ガス - 95% 空気の気相で約 2 週間培養して生じたコロニーを計数し, 線量 - 生存率曲線から小核試験を行う際の至適線量域 (0 ~ 3.5Gy) を求めた。次にこの線量域の 線を照射した ES 細胞および m5S 細胞に, 3 μg/ml のサイトカラシン B を添加後, 15 時間培養して 2 核細胞を蓄積させた後, 0.075M-KCl による低張処理, 酢酸メタノール (3/1) 固定, ギムザ染色を施したプレパレートを作成した。光学顕微鏡下, 1000 個の 2 核細胞について小核を含むものを計数し, その比率を求めた。

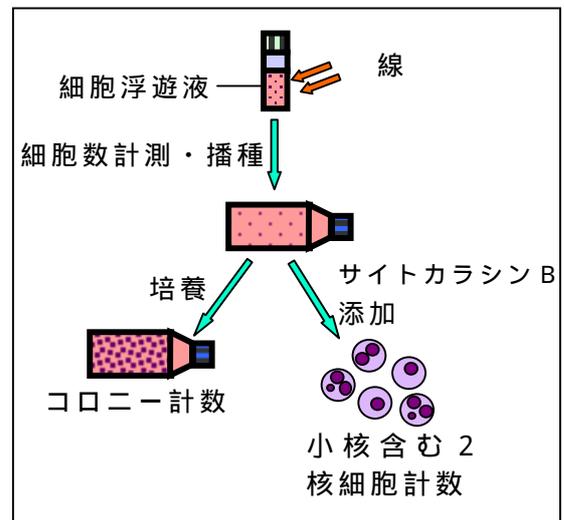


図 1 . 実験の概要

## 3. 結果

ES 細胞の 線に対する線量生存率曲線を図 2 に示す。平均致死線量 ( $D_0$ ) は 1.6Gy と推定された。m5S 細胞の  $D_0$  は 2.0Gy (M. S. Sasaki & S. Kodama, 1987) であることから, これらの線量を含む 4 点 (0, 1.0, 2.4, 3.5Gy) の線量について小核試験を実施した。その結果 2.4Gy までは, 線量の増大に伴う小核出現頻度の増加はほぼ同等であったが, 3.5Gy では ES 細胞にやや顕著な増大傾向がみられた。この差が  $D_0$  の差を反映するものかどうかについては不明であるが, 染色体そのものの構造や数異常, あるいは細胞の試験管内発がんといった別の指標についても検討を加える必要があるものと思われる。

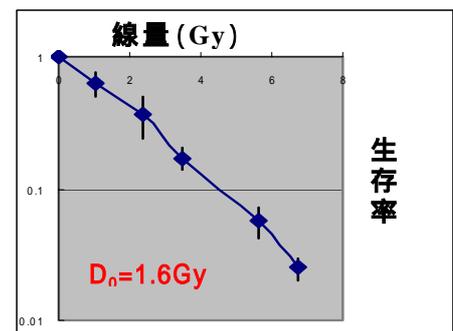


図 2 . ES 細胞の 線に対する線量 - 生存率曲線

## 4. まとめ

マウス ES 細胞および非 ES 細胞にストレス負荷 (放射線) をかけた後, その染色体の安定性の変動を小核出現頻度を指標として両細胞間で比較検討した。その結果,  $D_0$  を上回る線量では, ES 細胞の染色体不安定化が非 ES 細胞のそれに比べ, やや顕著になる傾向がみられた。

\* 1) ライフサイエンスグループ