

6.2 低線量放射線の生体防御機能に与える影響調査

6.2.1 低線量率ガンマ線連続照射マウスの移植腫瘍細胞に対する応答に関わる因子の解析

Response of Mice Continuously Irradiated with Low Dose-rate Gamma-rays to Transplanted Tumor Cells

高井 大策, 一戸 一晃, 田中 聡, 小村 潤一郎
生物影響研究部

Daisaku TAKAI, Kazuaki ICHINOHE, Satoshi TANAKA, Junichirou KOMURA
Department of Radiobiology

Abstract

We have previously shown that the transplantability of a murine ovary granulosa cell tumor cell line was significantly enhanced in syngeneic B6C3F₁ mice continuously irradiated with low dose-rate (20 mGy/22h/day) gamma-rays to a total accumulated high dose of 8000 mGy. In the present study, the transplantabilities were compared in mice continuously irradiated with low dose-rate gamma-rays at 1.0 and 0.05 mGy/22h/day to total accumulated doses of 400 mGy (mid-level) and 20 mGy (low level), respectively. The transplantability was partially enhanced in mice irradiated with 1.0 mGy/22h/day, but not in mice irradiated with 0.05 mGy/22h/day. In addition, transplantabilities in mice co-transplanted with dendritic cells were also compared using the same irradiation regimens. The enhanced transplantability after low dose-rate irradiation at 20 mGy/22h/day was decreased when co-transplanted with dendritic cells.

1. 目的

低線量率 (20 mGy/22h/day) ガンマ線長期連続照射マウスで観察された移植腫瘍細胞生着率の違いをもたらす要因が、ケモカイン-ケモカインレセプター系にあると仮定し、照射マウスにおけるケモカインレセプター発現の変化が移植腫瘍に対する応答 (生着率) の差に及ぼす影響を明らかにすることを目的とする。

2. 方法

平成7年度～平成15年度に実施した低線量放射線生物影響実験調査 (寿命試験) で用いられたマウスと同系統の SPF B6C3F₁ メスマウスを使用した。連続照射室に設置された ¹³⁷Cs-ガンマ線源を用い、低線量率 (0.05、1.0、20 mGy/22h/day) ガンマ線を

約400日間連続照射 (集積線量20、400、8000 mGy) した。照射終了直後のマウスの末梢血から RNA を抽出し、ケモカインレセプター遺伝子について逆転写定量リアルタイム PCR を行い、その発現量を非照射群と比較した。移植腫瘍細胞株として B6C3F₁ マウスに自然発生した卵巣顆粒膜細胞腫由来の培養細胞株 (OV3121) を使用した。健康な同系統マウス脾臓由来の樹状細胞を同数共移植 (樹状細胞共移植) した。以後毎週2回観察を行い、触診により腫瘍形成が確認された場合に腫瘍が生着したと判断した。

3. 成果の概要

昨年度までに、低線量率 (20 mGy/22h/day) ガンマ線を長期連続照射 (集積線量8000 mGy) したマウスの免疫細胞ではケモカインレセプター *Ccr5* の遺

伝子発現が抑制されていることが分かっている。また、腫瘍細胞が発現・分泌しているケモカインリガンド CCL8 がケモカインレセプター-CCR5 のリガンドであることは知られており、この CCR5—CCL8 の応答系の攪乱が照射マウスにおける移植腫瘍生着率亢進に寄与していること、及び照射マウスにおける *Ccr5* 遺伝子の発現低下が樹状細胞で起こっている可能性が示唆された。

そこで、今年度は昨年度までに明らかになった移植腫瘍生着率の亢進が、より低い線量率で観察されるかどうかを調べるために、8 週齢の B6C3F1 メスマウスに、20、1.0 及び 0.05 mGy/22h/day のガンマ線を約 400 日間連続照射した。照射の終了したマウス及び同日齢非照射対照マウスに 1×10^5 個の OV3121 細胞を背部皮下移植し、その生着を観察した。Fig. 1 に示すように、低線量率 (20 mGy/22h/day) ガンマ線で連続照射されたマウス (◇) では昨年度までに報告した結果と同様に、非照射対照 (○) に比べて移植腫瘍生着率の亢進が観察された。更に低い低線量率 (1.0 mGy/22h/day) ガンマ線で連続照射されたマウス (△) では、細胞移植後早い段階では移植腫瘍生着率が亢進していたが、最終的には非照射対照と有意差のない結果となった。また、更に低い低線量率 (0.05 mGy/22h/day) ガンマ線で連続照射されたマウス (□) では終始に渡り非照射対照と有意差のない結果となった。

また、照射マウスにおいて *Ccr5* 遺伝子の発現低下によって損なわれた免疫機能を樹状細胞の共移植によって補うことができるかどうかを観察するために、腫瘍細胞移植時に樹状細胞の共移植を試みた。低線量率 (20 mGy/22h/day) ガンマ線を約 400 日間

連続照射したマウスと同日齢非照射マウスに 1×10^5 個の OV3121 細胞及び健康な同系マウスから単離した 1×10^5 個の樹状細胞とを同時に移植し、OV3121 細胞の生着率を観察した。Fig. 2 に示すように、照射マウス (実線) 及び OV3121 細胞のみを移植した場合 (△) と比べて、樹状細胞を同時に移植した場合 (○) では移植腫瘍生着率の抑制傾向が観察された。さらに非照射マウス (点線) においても同様に、樹状細胞を同時に移植したマウス (○) では移植腫瘍生着率の抑制傾向が観察された。

これらの結果から、腫瘍細胞移植実験系においては、寿命試験の結果と同様に、低線量率 (1.0 及び 0.05 mGy/22h/day) ガンマ線の長期連続照射による影響を明瞭には観察することはできなかった。今回の結果は移植腫瘍の生着率亢進にケモカインレセプター-*Ccr5* 遺伝子の発現低下が関わっている可能性を支持するものであったことから、今後は 20 mGy/22h/day 照射群をターゲットに、照射マウスにみられる腫瘍細胞が生き残りやすい環境が何かを明らかにする研究を行う必要があると考えられる。更に、樹状細胞共移植により、低線量率 (20 mGy/22h/day) ガンマ線長期連続照射の影響が一部緩和された事から、低線量率放射線長期連続照射による免疫細胞のケモカインレセプター-*Ccr5* 遺伝子の発現低下に樹状細胞における *Ccr5* 遺伝子発現低下が関与する可能性が示唆された。今後は樹状細胞の中和実験や CCR5 発現細胞の共移植実験などについて更に研究を進めることで、低線量率放射線による移植腫瘍生着率亢進の機構を明らかにする事ができると考える。

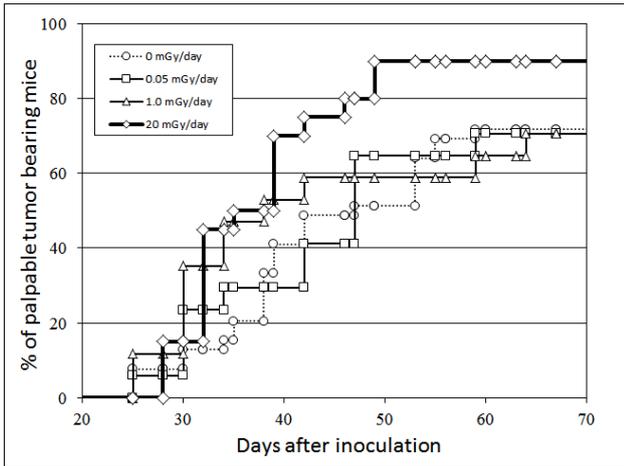


Fig. 1 Comparison of tumor transplantability. 1.0×10^5 OV3121 cells inoculated in mice - non-irradiated control (\diamond) and irradiated with 0.05 (\square), 1.0 (\triangle), or 20 (\circ) mGy/22h/day. The numbers of tumor-bearing mice, in which a palpable tumor was detected, were counted to assess transplanted tumor formation.

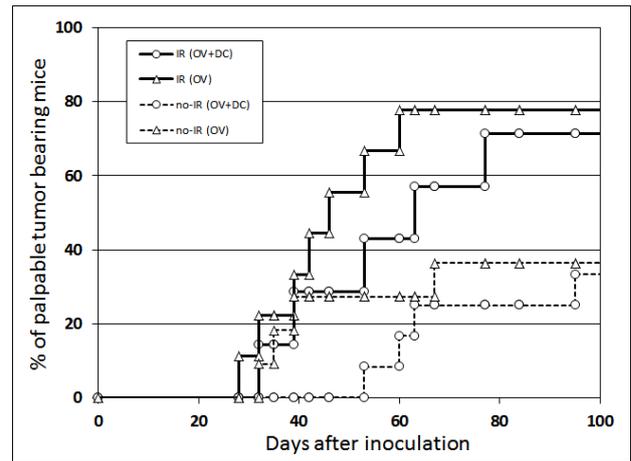


Fig. 2 Comparison of tumor transplantability. Age matched mice, non-irradiated control (dotted lines) and low dose-rate (20mGy/22h/day) gamma-irradiated (solid lines) inoculated with 1.0×10^5 OV3121 cells with (\circ) or without (\triangle) dendritic cell (DC) co-transplantation. The numbers of mice with palpable tumors were counted to assess transplanted tumor formation.