

## 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

#### Factors Affecting the Response of Mice to Transplantation of Tumor Cells After Continuous Irradiation with Low Dose-rate Gamma-rays

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, OV3121, was significantly enhanced in syngeneic B6C3F<sub>1</sub> mice continuously irradiated with low dose-rate (20 mGy/22h/day) gamma-rays to a total accumulated dose of 8000 mGy. In the present study, we show that the transplantability of 3LL cells derived from Luis Lung carcinoma was not altered in male C57BL/6 mice exposed to the same irradiation regimen. In addition, there was no effect on transplantability of OV3121 cells when co-transplanted with CCR5-positive lymphocytes in B6C3F<sub>1</sub> mice exposed to the same irradiation regimen.

#### 1. 目的

低線量率 (20 mGy/22 時間/日)  $\gamma$  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の発現変化の影響が移植腫瘍に対する応答 (生着率) の差に及ぶことを明らかにすることを目的とする。

#### 2. 方法

SPF B6C3F<sub>1</sub> メスマウス及び SPF C57BL/6 オスマウスを 6 週齢で日本クレア株式会社から購入し、2 週間の馴致の後、SPF 飼育室において 8 週齢より照射を開始した。連続照射室に設置された <sup>137</sup>Cs- $\gamma$  線源を用い、20 mGy/22 時間/日の  $\gamma$  線を累積線量が 8,000 mGy になるまで連続照射した。移植腫瘍細胞株として B6C3F<sub>1</sub> 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) 及び C57BL/6 マウスに自然発生したルイス肺癌由来の培養細胞株(3LL) を使用し、培養した腫瘍細胞を回収・計数した後、生理食塩水に懸濁し、マウスの背部皮下に注射した。養子移入実験として、健康な B6C3F<sub>1</sub> メスマウスから摘出した脾臓由来の CCR5 陽性免疫細胞を磁気細胞分離装置 (AutoMACS) を用いて濃縮し、腫瘍細胞と同数共移植した。以後毎週 2 回観察を行い、触診により腫瘤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

これまでに移植腫瘍生着率の亢進が認められている B6C3F<sub>1</sub> メスマウスに加えて、他系統である C57BL/6 オスマウスに低線量率 (20 mGy/22 時間/日)  $\gamma$  線を累積線量 8000 mGy になるまで照射し、様々ながん細胞移植研究で用いられているルイス肺癌由来

の培養細胞を移植し、その生着率を非照射コントロールマウスと比較した。皮下腫瘍の形成を観察したところ、Fig. 1 に示すように、照射群・非照射群の間に有意な差は見いだされなかった。

これらの結果と前年度までに得られた結果とを合わせると、卵巣顆粒膜細胞腫及び線維肉腫由来の培養細胞では、移植腫瘍細胞生着率の有意な亢進が観察された一方で、胸腺リンパ腫、平滑筋肉腫及びルイス肺癌由来の培養細胞では、移植腫瘍生着率の有意な亢進は観察されず、腫瘍の種類やマウスの遺伝的背景の違いによって移植腫瘍生着率が大きく異なることが明らかとなった。放射線照射によるがん誘発の頻度はがんの種類によって異なることが明らかとなっており、この結果と一致するものであった。今後、腫瘍細胞移植実験系を用いた研究を進めるにあたっては、移植に用いる腫瘍細胞種の選定に留意する必要があると考えられる。

また、低線量率 $\gamma$ 線長期連続照射によって減少したCCR5 発現免疫細胞を補うこと（養子移入）による移植腫瘍生着率の変化を明らかにするために、健康なマウスから単離したCCR5 発現免疫細胞を腫瘍細胞と同時に移植する実験を実施した。B6C3F1 メスマウスに低線量率（20 mGy/22 時間/日） $\gamma$ 線を集

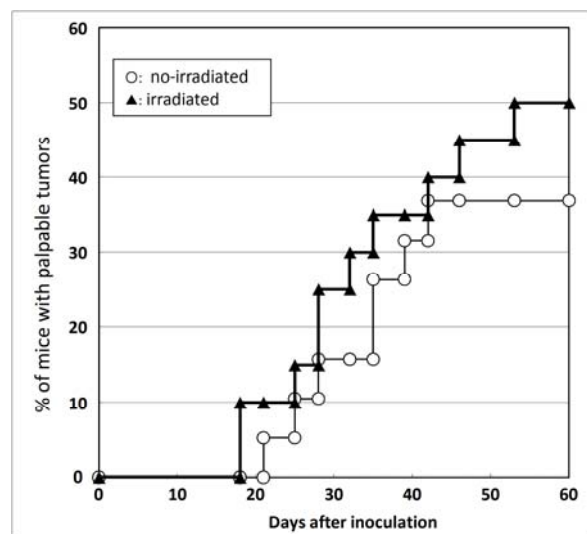


Fig. 1 Comparison of tumor transplantability. 3LL cells were inoculated (200 cells/mouse) in irradiated ( $\blacktriangle$ ) and non-irradiated ( $\circ$ ) male C57BL/6 mice. Mice with palpable tumors were counted to assess transplanted tumor formation.

積線量が 8,000 mGy になるまで連続照射した照射マウスと同日齢非照射コントロールマウスに、 $1 \times 10^5$  個の OV3121 細胞を背部皮下注射した。半数のマウスには、健康なマウスから単離したCCR5 陽性免疫

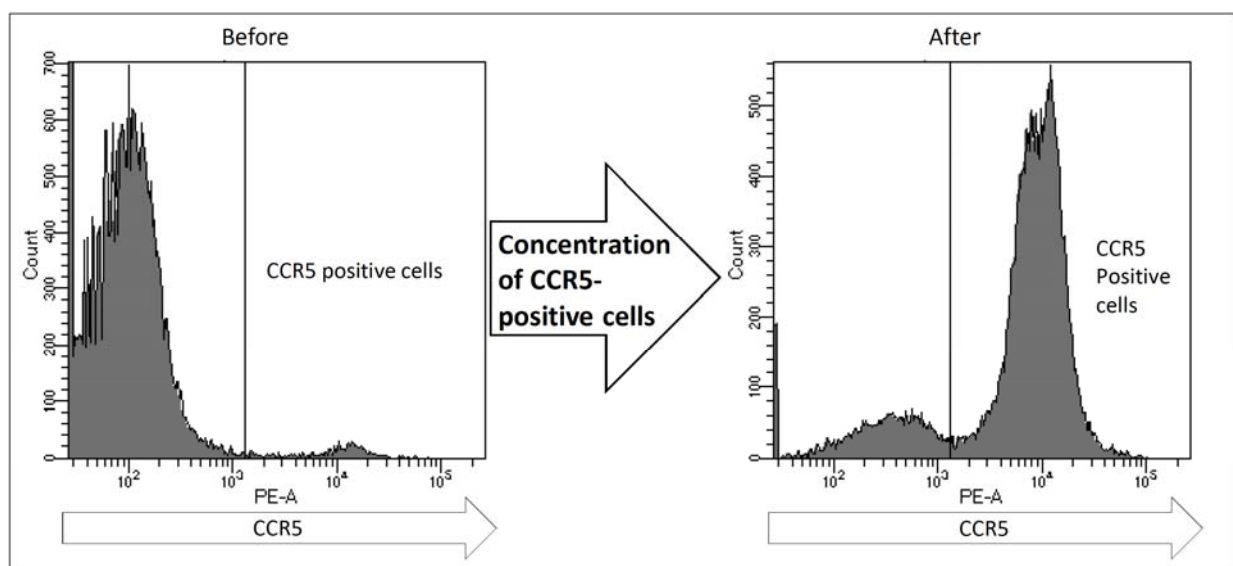


Fig. 2 Concentration of CCR5-positive cells. Splenocytes from female B6C3F1 mice were stained with Rat PE-labeled anti-mouse CCR5 antibody. The labeled cells were captured by anti-PE microbeads using a cell separator. Cells were analysed with a flow cytometer.

細胞 (Fig. 2 ; PE で標識された抗マウス CCR5 抗体による染色) を同時に注射した。その結果、CCR5 陽性免疫細胞の共移植による移植腫瘍生着率の変化は観察されなかった (Fig. 3)。

前年度までに、低線量率  $\gamma$  線を連続照射されたマウスにおいて、ケモカインレセプター CCR5 の発現が有意に減少していることを示した。また、ケモカインレセプター CCR5 と反応することが知られているケモカインリガンドのうち、CCL8 の発現抑制により移植腫瘍生着率が有意に亢進することを報告した。そこで、低線量率 (20 mGy/22 時間/日)  $\gamma$  線の連続照射マウスに、CCR5 発現免疫細胞を補うことによる効果を観察したところ、CCR5 発現陽性細胞の共移植による移植腫瘍生着率亢進の抑制は観察されなかった (Fig. 3)。抑制作用が見られなかった原因としては、CCR5 発現陽性の細胞集団中には複数種類の細胞が含まれており、移植腫瘍細胞に対する応答が異なっているため、もしくは、移植腫瘍細胞の排除には CCR5 陽性免疫細胞単独の作用だけではなく、その作用を補強する要因が必要であるためと考えられる。今後、移植腫瘍生着率の亢進に寄与する細胞の特定が必要であると考えられた。

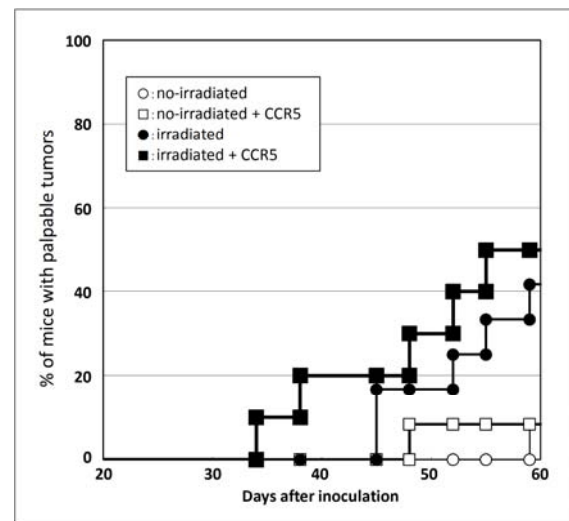


Fig. 3 Comparison of tumor transplantability.  $1 \times 10^5$  OV3121 cells were inoculated in irradiated (●, ■) and non-irradiated (○, □) B6C3F<sub>1</sub> female mice with (□, ■) or without (○, ●)  $1 \times 10^5$  CCR5 positive lymphocyte co-transplantation. Mice with palpable tumors were counted to assess transplanted tumor formation.