

2. 3. 2 免疫系解析

Comparison of Tumor Transplantability in Mice Exposed to Control or Enriched Environment

高井 大策, 田中 イグナシヤ, 小村 潤一郎, 田中 聡
生物影響研究部

Daisaku TAKAI, Ignacia TANAKA, Jun-ichiro KOMURA, Satoshi TANAKA
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 B6C3F1 mice continuously irradiated with low dose-rate (20 mGy/day) γ -rays to a total accumulated dose of 8000 mGy. In the present report, two experiments were designed to clarify whether the tumor transplantability enhanced by γ -irradiation can be alleviated by environmental enrichment. Mice were exposed to an enriched environment before (Expt 1) or after (Expt 2) tumor transplantation. Results of Expt 1 showed that tumor transplantability was reduced when tumor cells were transplanted in both non-irradiated and irradiated (high dose-rate γ -rays = 770 mGy/min, total dose = 3 Gy) mice after exposure to an enriched environment. In Expt 2, tumor transplantability was not significantly different between groups of mice exposed to an enriched environment using a normal (C) or large cage (EE-L) after transplantation.

1. 目的

低線量率 (20 mGy/日) γ 線長期連続照射マウスで観察された移植腫瘍細胞排除能の低下が環境エンリッチメント飼育によって改善しうるか否かを明らかにするための至適実験条件を確立することを目的とする。

2. 方法

SPF B6C3F1 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、実験に用いた。SPF 飼育室において 8 週齢時に照射を行った。 γ 線照射はマウスをアクリル性の照射容器に入れ、 ^{137}Cs - γ 線源を備えたガンマ・セル (Nordion 社) を用いて、所定の線量に達するまで照射を行った。線量率は約 0.77 Gy/分であった。腫瘍細胞株は卵巣顆粒膜細胞腫由来の培養細胞株 (OV3121) を、ヒューマンサイエンス研究資源バンクから譲渡をうけた。細胞は 10% FCS を含む

RPMI1640 培地中で無菌的に培養した。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。移植後、触診により週 2 回皮下腫瘍の形成を観察した。環境エンリッチメント飼育としては、通常の飼育ケージ (170W x 260D x 130H, mm, トキワ科学機器株式会社) 内に Igloo with wheel (BioServe 社) を設置し、マウスが自由に触れることができるようにした。また、飼育床面積が約 4.3 倍である EE-L ケージ (380W x 500D x 150H, mm, トキワ科学機器株式会社) では Igloo with wheel に加え、紙製のバイオトンネル (BioServe 社) やプラスチック製の遊具 (三晃商会) を複数個設置した。

3. 成果の概要

環境エンリッチメント飼育が、放射線照射により引き起こされる移植腫瘍排除能の低下を緩和できるのかどうかを明らかにするために 2 通りの実験を行

った。一つ目は腫瘍細胞移植前から環境エンリッチメント飼育を行う実験で、二つ目は腫瘍細胞移植後から環境エンリッチメント飼育を行う実験である。それぞれ至適な環境エンリッチメント処置のための実験条件を明らかにする実験を行った。

3.1 移植前環境エンリッチメント実験

まずは一つ目の、腫瘍細胞移植前から環境エンリッチメント飼育を行う実験では、5週間の環境エンリッチメント飼育群 (EE■) のマウスに OV3121 細胞を 5×10^5 個背部皮下移植し、腫瘍の形成を観察したところ、通常飼育群 (C◆) のマウスに比べて移植腫瘍の排除能が有意に亢進していた (Fig. 1, $p < 0.001$ log rank test)。そこで、放射線照射により引き起こされる移植腫瘍排除能の低下に対する環境エンリッチメントの効果を観察するために、8週間の環境エンリッチメント飼育群のマウスに、移植腫瘍排除能が明瞭に抑制されることが明らかな線量である 3 Gy の急照射を行い、その1日後 OV3121 細胞を 5×10^5 個背部皮下移植し、引き続き環境エンリッチメント飼育を行い、腫瘍の形成を観察したところ、通常飼育群 (R+C◆) のマウスに比べて環境エンリッチメント飼育群 (R+EE■) のマウスで移植腫瘍排除能の有意な亢進が観察された (Fig. 2, $p < 0.05$, log rank test)。

今回、放射線照射マウスで観察される移植腫瘍排除能の低下が環境エンリッチメント飼育により緩和されていることを示す飼育条件を明らかにすることができたことから、次年度以降、ここで得られた結果をもとにした実験条件を用いて低線量率放射線長期連続照射マウスに対する環境エンリッチメントの効果を実験を進めていく予定である。

3.2 移植後環境エンリッチメント実験

次いで、腫瘍細胞移植後に環境エンリッチメント飼育を開始する実験では、8週齢のマウスに OV3121 細胞を 5×10^5 個背部皮下移植した後に環境エンリッチメント飼育を開始した。皮下腫瘍の形成を観察したところ、通常飼育群のマウスに比べて環境エンリッチメント飼育群において移植腫瘍の排除能に有意な差は見られなかった。そこで、環境エンリッチメントの効果を上げる可能性を考え、飼育面積の広い飼育ケージ (EE-L) を用意し、同様に腫瘍細胞の移植実験を行った。1匹あたりの飼育面積は通常の飼育ケージで約 110 cm^2 である一方で、EE-L ケージにおいては約 316 cm^2 と広がっている。その結果、予想とは異なり、環境エンリッチメント飼育群 (EE-L■) では通常飼育群 (C◆) と比べて移植腫瘍の排除能が低下傾向を示した (Fig. 3, $p > 0.1$, log rank test)。

今回、腫瘍細胞移植後に環境エンリッチメント飼育を開始する実験では、環境エンリッチメントによる移植腫瘍細胞排除能の亢進は観察されなかった。また、1匹あたりの飼育面積が広く、遊具の数も多い EE-L ケージにおいても、移植腫瘍排除能は観察されず、有意な差ではないものの抑制的であった。この原因は不明であるが、実験動物において、運動と健康の関係は、肯定的、すなわち運動により寿命が延長するという報告が多い一方で、否定的、すなわち運動により寿命が短縮するという報告もあり、未だ定まった評価が下されているとは言い難い。今回の結果では、EE-L ケージ飼育群において移植腫瘍の排除能が低下傾向を示しており、運動が腫瘍排除能を抑制する効果をもたらしている可能性を示している。そこで、次年度は運動量を変化させない条件での環境エンリッチメント飼育を試みる予定である。

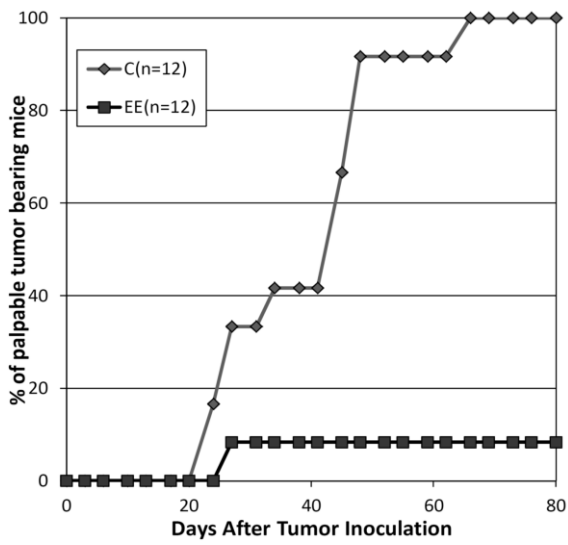


Fig. 1 Comparison of tumor transplantability. Mice were inoculated with OV3121 cells after a 5-week exposure to an enriched (EE) or control (C) environment. Mice with palpable tumors were counted to assess transplanted tumor formation.

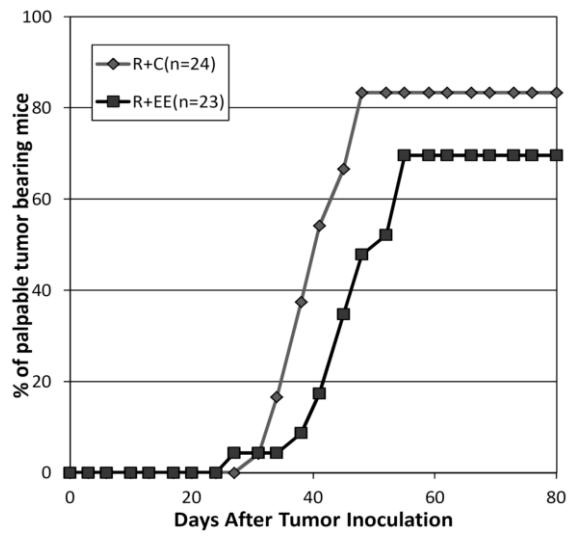


Fig. 2 Comparison of tumor transplantability. Mice were inoculated with OV3121 cells after an 8-week exposure to enriched (EE) or control (C) environment and irradiation with acute high dose-rate of 3 Gy γ -rays. Mice with palpable tumors were counted to assess transplanted tumor formation.

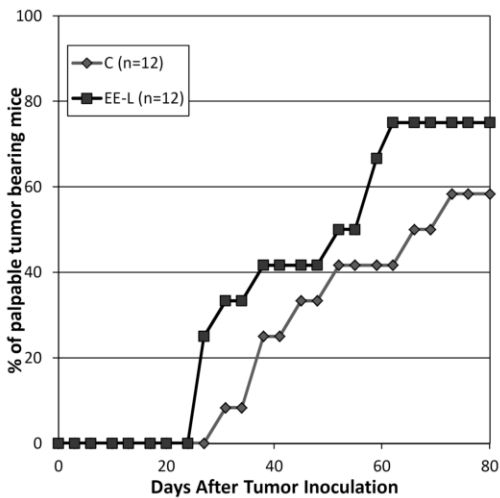


Fig. 3 Comparison of tumor transplantability. Mice were inoculated with OV3121 cells, and then exposed to enriched (EE-L, using large cage) or control (C, using normal cage) environment. Mice with palpable tumors were counted to assess transplanted tumor formation.