

## 2. 4. 2 免疫系解析

### Tumor Transplantability in Mice Kept in Standard Non-enriched Environment (Control) or Enriched Environment

高井 大策

生物影響研究部

Daisaku TAKAI

*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> female mice irradiated with gamma-rays at a low dose-rate of 20 mGy/day for 400 days. Transplantability, however, was reduced when mice were kept in an enriched environment (EE). The purpose of this study is to clarify whether adverse effects caused by exposure to continuous low dose-rate gamma-rays are reduced by environmental enrichment, using tumor transplantability as an index. Last year, we showed that the EE tended to mitigate the adverse effects, but could not find a significant difference. This year, we conducted an experiment with an additional number of mice and found that EE treatment could significantly mitigate the adverse effects by the low dose-rate radiation. The composition of cells involved in immunity in the peripheral blood of mice after irradiation for 400 days suggested that natural killer cells were involved in the mitigation. In an attempt to enhance the ability of EE, we performed EE treatment throughout the experimental period, but no significant mitigation of the adverse effects of EE was observed.

#### 1. 目的

低線量率 (20 mGy/日)  $\gamma$  線長期連続照射がもたらす悪影響が飼育環境変化により低減されるか否かを、腫瘍細胞移植実験系を用い、移植腫瘍細胞の生着を指標として明らかにすることを目的とする。

#### 2. 方法

6 週齢の SPF B6C3F<sub>1</sub> メスマウスを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。連続照射室に設置された <sup>137</sup>Cs- $\gamma$  線源を用い、線量率 20 mGy/日の  $\gamma$  線を集積線量が 8000 mGy になるまでマウスに連続照射した。その後ヒューマンサイエンス研究資源バンクから譲渡された卵巣顆粒膜細胞腫由来の培養細胞株 (OV3121) を生理食塩水に懸濁し、マウスの背部皮下に注射した。マウスは通常飼育群に加え、環境エンリッチメント飼育 (1 つ

のケージにイグルーを 2 個設置) を行い、通常飼育マウスと皮下腫瘍の形成割合を比較した。

#### 3. 成果の概要

低線量率 (約 20 mGy/日) 放射線を 400 日間連続照射したマウスに卵巣顆粒膜細胞腫由来の培養細胞を移植し、移植腫瘍細胞の排除能を観察した。エンリッチメント処置群は、照射開始後 344 日目から移植 100 日後 (照射開始後 500 日目) までエンリッチメント環境下で飼育した (Fig. 1A)。非照射群ではエンリッチメント飼育群 (C+EE) は通常飼育群 (C+SE) に比べて移植腫瘍排除能が有意に亢進し ( $p=0.028$ , log-rank 検定、Fig. 1B)、照射群においてもエンリッチメント飼育群 (IR+EE) は通常飼育群 (IR+SE) に比べて移植腫瘍排除能が有意に亢進した ( $p=0.032$ , log-rank 検定、Fig. 1B)。

低線量率（約 20 mGy/日）放射線の 400 日間連続照射の間継続的にエンリッチメント処置を施したマウスでは、照射群・非照射群いずれにおいても、エンリッチメント処置群と通常飼育群の間に有意な差は見られなかった（ $p>0.05$ 、log-rank 検定、Fig. 2）。

低線量率（約 20 mGy/日）放射線を 400 日間連続照射したマウスの末梢血中の免疫に関わる細胞の割合をフローサイトメトリー法により、また、NK 細胞の細胞障害活性を ELISA 法により解析した（Fig. 3）。T 細胞（CD8a<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>）や単球（CD11b<sup>+</sup>）には細胞の割合に有意な差はなかったが、マクロファージ（F4/80<sup>+</sup>）、樹状細胞（CD11c<sup>+</sup>）、B 細胞（CD45R<sup>+</sup>）は、環境エンリッチメント飼育によってその割合が有意に増加していた（ $p<0.05$ 、Tukey-Kramer 検定）一方で、放射線照射による増減は観察されなかった。抗腫瘍免疫特に重要な役割を担っている NK 細胞（CD335<sup>+</sup>）はその割合が放射線照射によって有意に

減少する一方で、環境エンリッチメント飼育によって回復する傾向が観察された。また、NK 細胞の細胞障害活性も同様の傾向を示した。

今回の結果から、低線量率放射線長期連続照射による移植腫瘍排除能の低下は、環境エンリッチメント飼育により改善できることが明らかに示された。しかし、強い効果が期待された照射期間中継続した環境エンリッチメント処置は、照射群では改善傾向が観察されたが、非照射群では逆に悪化傾向を示すなど、効果は一定ではなく、環境エンリッチメントによる移植腫瘍排除能の増進機構は多種類の要因が関与している複雑な機構であると推測された。また、末梢血中の免疫細胞の割合から、低線量率放射線長期連続照射による移植腫瘍排除能の低下を改善する環境エンリッチメント飼育には、NK 細胞の働きが関与している可能性が示唆された。

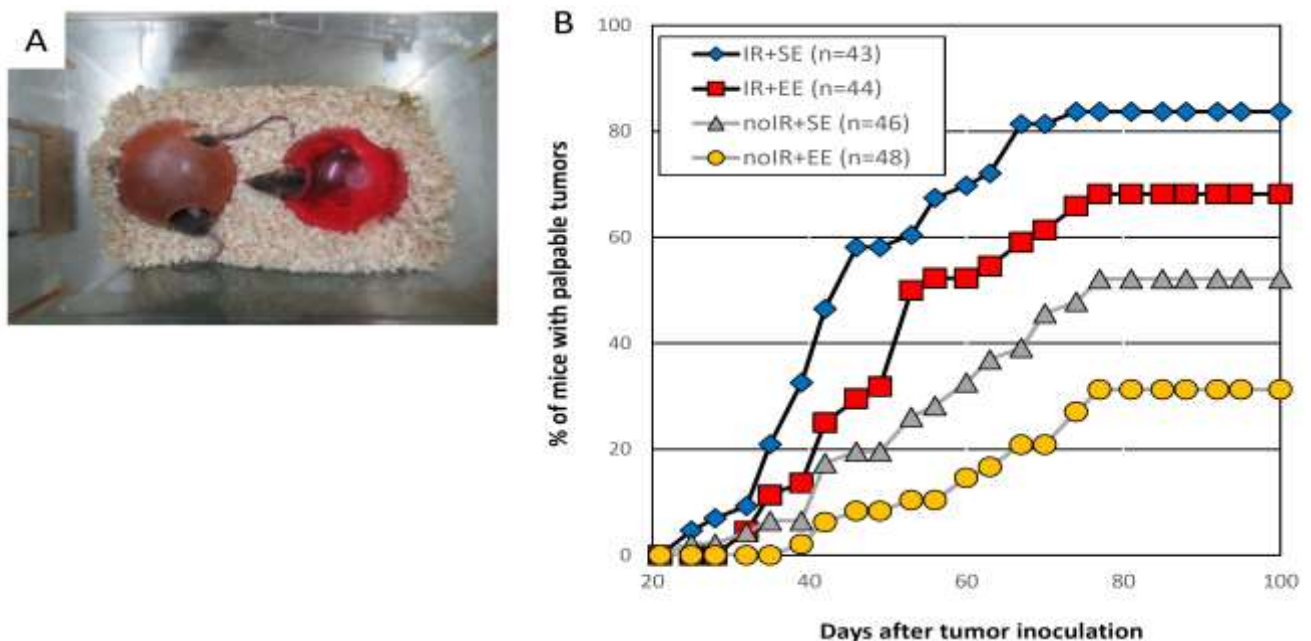


Fig. 1 Comparison of tumor transplantability. A) Four mice were housed in the EE with two igloos in a cage. B) Graph of tumor transplantability of each group. IR, irradiated; C, nonirradiated; EE, enriched environment; SE, standard environment.

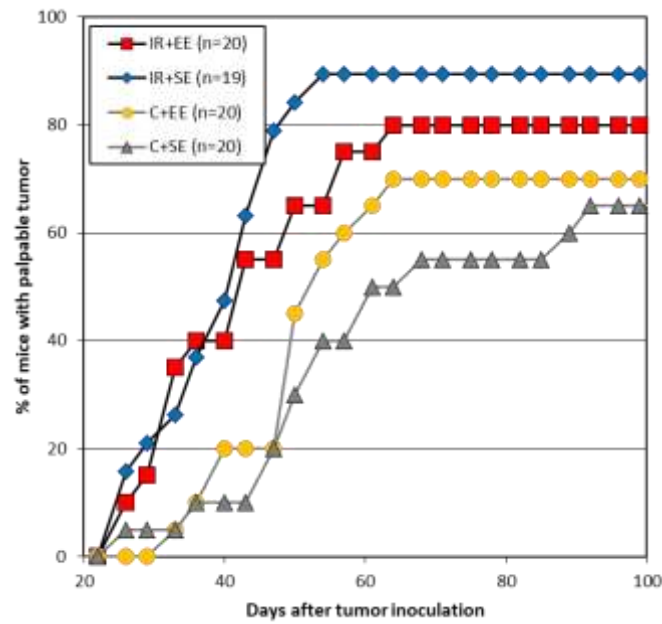


Fig. 2 Graph of tumor transplatability of each group when EE treatment was performed throughout the experimental period. IR, irradiated; C, nonirradiated; EE, enriched environment; SE, standard environment.

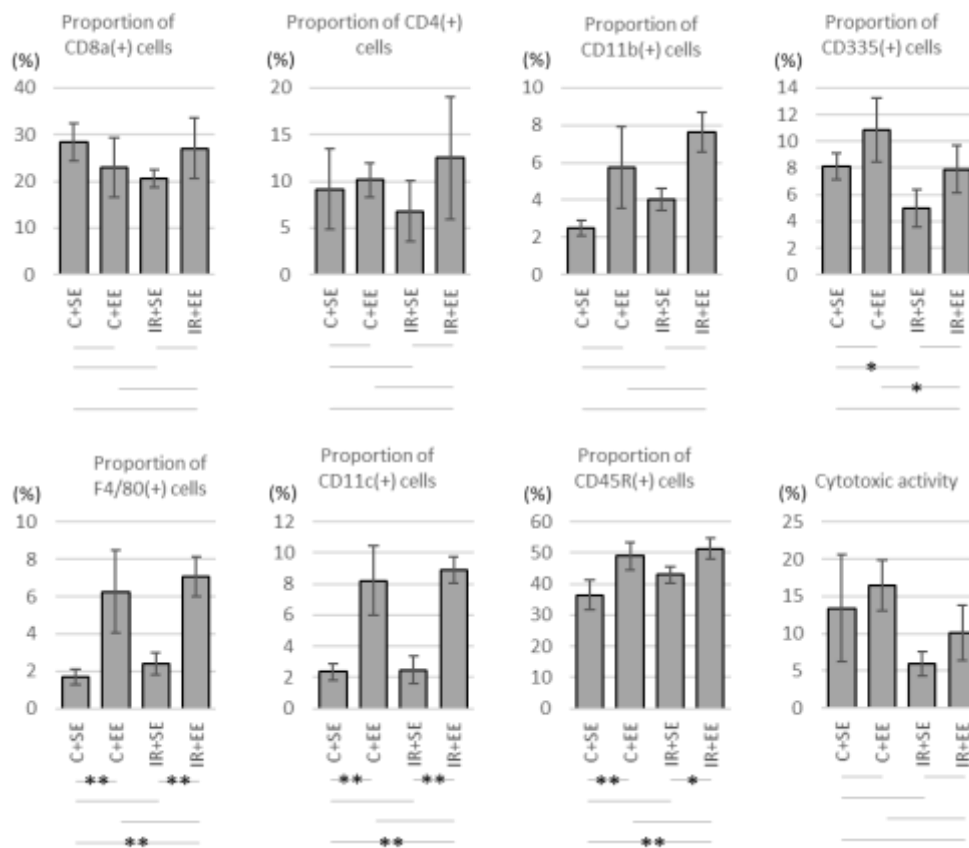


Fig. 3 Results of flow cytometric analysis showing proportions of CD8a, CD4, CD11b, CD335, F4/80, CD11c, and CD45R-positive cells and results of the assay for NK cell activity, in the peripheral blood of each group (n=4, respectively). Bar, standard deviation; \*, p<0.05; \*\*, p<0.01 (t-test).