

免疫不全マウス移植モデル作製試験結果 **-3-** (静脈内移植モデル)

急性骨髄性白血病細胞株 (KG-1a、MOLM-13、MV4-11、MOLM-16)

日本チャールス・リバー株式会社

2015年6月16日

本資料はお客様のご厚意によりご提供いただきました

試験報告書

試験名 : 急性骨髄性白血病細胞株を用いた静脈内移植モデルマウスの作製検討

試験目的 : 急性骨髄性白血病細胞株 KG-1a、MOLM-13、MV4-11、MOLM-16 を免疫不全マウス (CB17-scid、NOD-scid、Scid-Beige および NSG) の静脈内に移植し、生着効率と生存期間を検討する。

試験日程 :

動物入荷日 : 2015 年 1 月 27 日
 検疫・馴化期間 : 2015 年 1 月 27 日～ 2 月 1 日
 細胞移植日 : 2015 年 2 月 2 日 (Day 0)
 観察期間 : 2015 年 2 月 3 日～6 月 2 日 (Day 120)

使用動物 :

CB17/lcr-Prkdc^{scid}/CrlCrlj (CB17-scid)、日本チャールス・リバー、雄、10 匹
 NOD.CB17-Prkdc^{scid}/J (NOD-scid)、日本チャールス・リバー、雄、15 匹
 CB17.Cg-Prkdc^{scid} Lyst^{bg-J}/CrlCr (Scid-Beige)、日本チャールス・リバー、雄、15 匹
 NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG)、日本チャールス・リバー、雄、6 匹

入荷時週齢 : 5 週齢

一連の動物実験は動物の愛護及び管理に関する法律 (昭和 48 年 10 月 1 日法律第 105 号、平成 18 年 6 月 1 日最終改正) に従い実施した。

試験方法 :

1. 細胞移植

10% FBS を含む RPMI-1640 培地で培養した KG-1a、MOLM-13、MV4-11、MOLM-16 細胞を遠心回収し、PBS を用いて 2.5×10^7 cells/mL の細胞懸濁液を調製した。細胞懸濁液 0.2 mL (5×10^6 cells) を 26G の注射針およびシリンジを用いてマウスの尾静脈内に注入した。

群構成

群番号	マウス系統	移植細胞株	細胞数	匹数
1	NOD-scid	KG-1a	5×10^6	4
2	Scid-Beige			4
3	NSG			2
4	CB17-scid	MV4-11		4
5	NOD-scid			4
6	Scid-Beige			4
7	NSG	2		
8	CB17-scid	MOLM-13		3
9	NOD-scid			4

10	Scid-Beige	MOLM-16	4
11	CB17-scid		3
12	NOD-scid		3
13	Scid-Beige		3
14	NSG		2

2. 評価

毎朝、各動物の一般症状を観察した。下半身麻痺や活動性低下かつ低体温が見られた個体は瀕死と判断して炭酸ガス吸入により安楽殺した。

結果：

1. MOLM-13

MOLM-13 を移植した Scid-Beige マウスでは、移植 16 日頃から死亡が認められ、平均生存日数は 17.8 日であった (図 1)。NOD-scid マウスでも、移植 24 日頃から死亡が認められ、平均生存日数は 25.0 日であった。CB17-scid マウスでは 3 例中 2 例では病態・死亡が認められたが、1 例では移植 120 日を過ぎても異常が見られなかった。MOLM-13 の静脈内移植では脾臓の腫大は認められず、腸リンパ節の腫大や頭蓋骨内腫瘍が認められた。また、下半身麻痺を呈する動物が見られた。

2. MV4-11

MV4-11 を移植した NSG マウスでは、移植 46 日および 48 日目に死亡が認められ、平均生存日数は 47.0 日であった (図 2)。Scid-Beige マウスでは、移植 64 日頃から死亡が認められ、平均生存日数は 86.3 日であった。NOD-scid マウスの平均生存日数は 90.5 日であった。MV4-11 の NSG マウスへの静脈内移植では脾臓の腫大や、末梢血中の白血球数増加や貧血が認められた。Scid-Beige マウスや NOD-scid マウスへの移植では脾臓腫大は認められず、頭蓋骨内腫瘍が認められた。

3. KG-1a

KG-1a を移植した NSG マウスでは、移植 60 日および 83 日目に死亡を認め、平均生存日数は 71.5 日であった (図 3)。NOD-scid マウスへの移植では 4 例中 1 例で移植 108 日目に死亡を認めた。Scid-Beige マウスや CB17-scid マウスへの移植では 120 日を過ぎても異常が見られなかった。KG-1a の静脈内移植では脾臓の腫大は認められず、頭蓋骨内腫瘍が認められた。

4. MOLM-16

MOLM-16 を移植した NSG マウスでは、移植 68 日および 94 日目に死亡を認め、平均生存日数は 81.0 日であった (図 4)。その他のマウスへの移植では 120 日を過ぎても異常が見られなかった。

考察：

MOLM-13 の静脈内移植では Scid-Beige マウスの使用により、前処置なし条件での安定した生着が得られ、試験期間の短縮が期待できる。また、MV4-11、KG-1a および

MOLM-16 での静脈内移植では NSG マウスの使用により、前処置なし条件での生着が得られる。

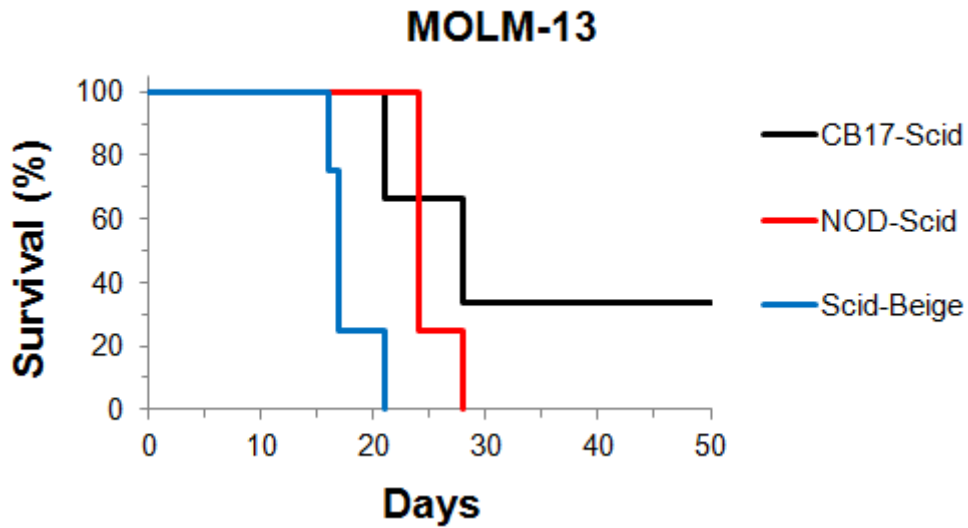


図 1 MOLM-13 静脈内移植マウスの生存期間

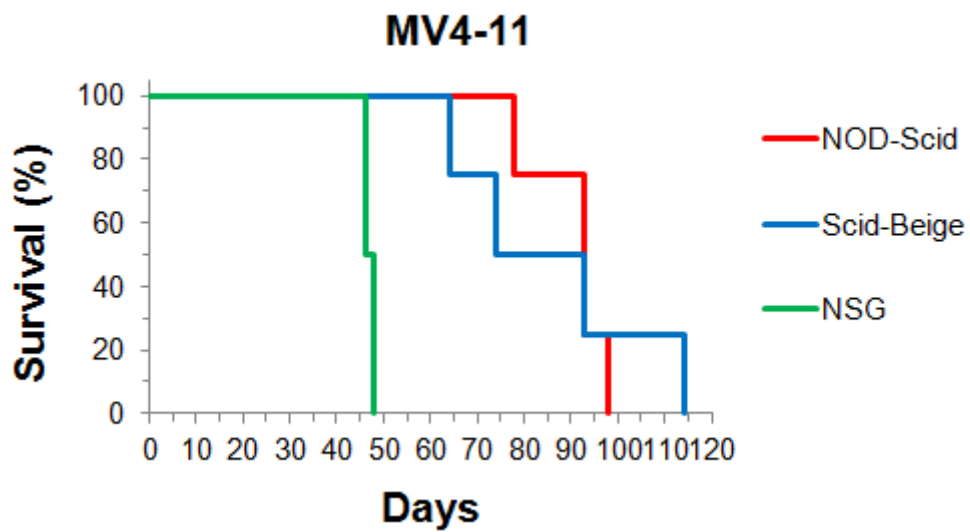


図 2 MV4-11 静脈内移植マウスの生存期間

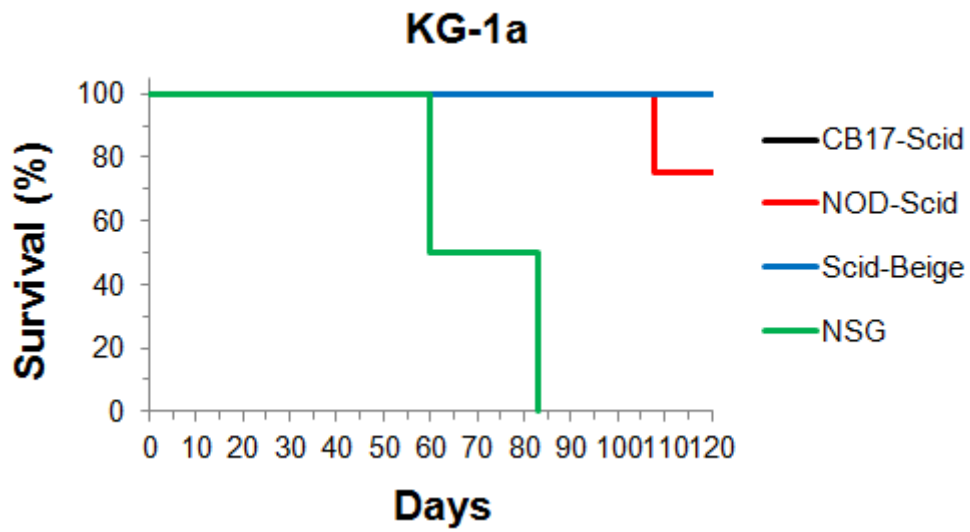


図3 KG-1a 静脈内移植マウスの生存期間

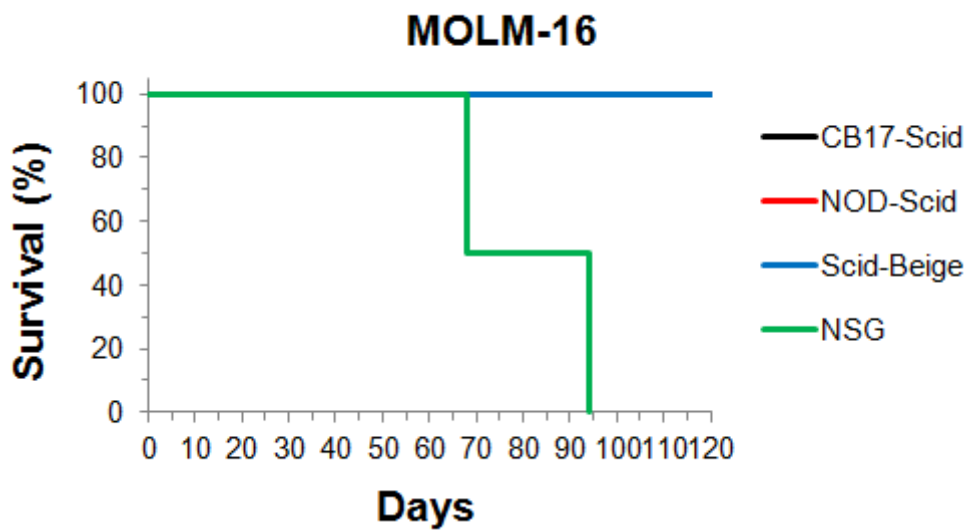


図4 MOLM-16 静脈内移植マウスの生存期間