

Age-related Incidence of Spontaneous Tumors in SPF C57BL/6 and BDF₁ Mice

Ken-ichi NAKAMURA, Kazunao KURAMOTO*, Kimiko SHIBASAKI**,
Seigo SHUMIYA*, and Kohichiro OHTSUBO

*Department of Clinical Pathology, *Department of Laboratory Animal Science, and
**Department of Information Dynamics, Tokyo Metropolitan Institute of
Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku, Tokyo 173, Japan*

(Received 6 November 1990/Accepted 17 January 1992)

Incidence of spontaneous tumors in C57BL/6 NCrj (CR), C5BL/6 CrSlc (SL) and B6 Crj × DBA/2 NCrj F₁ (BD) mice, which were reared under a barrier system and died natural death, were examined. Cohorts of mice in 200 to 300 each were purchased at 4 weeks of age and raised under SPF conditions. A large portion of the mice were used for various experiments between 3 and 30 months old while not a small number died before use and were autopsied. Median survival periods of the female and male were estimated at 697 and 680 days for CR, 764 and 806 days for SL and 866 and 929 days for BD, respectively. Incidence of spontaneous neoplastic lesions in the autopsied animals were 77.4% and 79.2% of 535 female and 590 male CR, 69.7% and 55.1% of 502 female and 463 male SL, and 75.8% and 78.0% of 298 female and 346 male BD, respectively. In CR, histiocytic sarcoma was the most predominant tumor, accounting for 72.1% of all tumors. In SL, malignant lymphoma was the most prevailing, forming 62.3%, and, in male BD, hepatocellular carcinoma was the most frequent, accounting for 41.8% of all tumors. — KEY WORDS : aging, BDF₁, C57BL/6, SPF-mice, spontaneous tumor

SPF 下に長期飼育されたマウス, C57BL/6 および BDF₁ における自然発生腫瘍

仲村賢一・倉本和直*・柴崎公子**・
朱宮正剛*・大坪浩一郎

東京都老人総合研究所臨床病理

*東京都老人総合研究所実験動物

**東京都老人総合研究所情報シミュレーション

われわれはマウスの SPF 条件下での加齢にともな
って自然発生する病変の頻度ならびに性状を明らかに
するために当研究所のバリアシステムにおける自然死
例の病理学的検索を行ってきた。前報 [13] において
C57BL/6 Slc の非腫瘍性病変を詳報した。本論文では腫
瘍性病変について述べる。

材料および方法

対象マウスは C57BL/6NCrj (以下 CR), C57BL/
6 CrSlc (以下 SL), C57BL/6 NCrj × DBA/2 NCrj F₁
(以下 BD) の各雌雄である。CR は日本チャールスリバ
ー株式会社より 1979 年 9 月から 1981 年 3 月まで、3 カ月

Table 1. Incidence of neoplasms in autopsied mice

Strain Sex	Incidence (% in Examined Mice)						C57BL/6 ¹⁾ M	BDF ₁ ²⁾		DBA/2 ³⁾	
	SL F	SL M	CR F	CR M	BD F	BD M		F	M	F	M
Malig. Lymphoma	52.6	36.8	20.7	11.7	38.9	22.3	0	30.0	0	11.8	10.4
Histiocytic Sa.	9.2	6.3	54.4	65.6	24.8	11.3	51.3	30.0	14.0		
Hepatocellular Carcinoma	1.8	9.5	0.4	2.0	5.7	40.4	8.8	0	42.0	0	1.5
Lung Adenoma/ Carcinoma	2.8	6.3	1.5	1.9	4.4	14.1	11.3	10.0	22.0	0	0
Skin Tumors	0.8	0.9	0	0	0.3	0.6	0	6.0	2.0		
Subcut. Tumors	2.8	0.4	2.2	0.7	3.4	4.3	0				
Mammary Tumors	0.8		0.4		2.7			8.0	0		
Pituitary Adenoma	6.2	0.4	1.9	0.0	5.7	0.6	0	16.0	0	37.3	4.5
Other Tumors	4.2	2.6	0.7	2.4	6.4	5.2	10.0				
Number of Mice Examined	502	463	535	590	298	346	80	50	50	51	67
Tumor-Bearing Mice	350	255	414	467	226	270	57			25	10
Incidence (%)	69.7	55.1	77.4	79.2	75.8	78.0	713			49.0	14.9
Number of Tumors	406	291	443	497	278	335	65	80	81	25	11
Number of Tumor per Mouse (Mean)	1.16	1.14	1.07	1.06	1.23	1.24	1.14			1	1.1

¹⁾, ²⁾, ³⁾ cf. Ref. 11, 20, 16, respectively

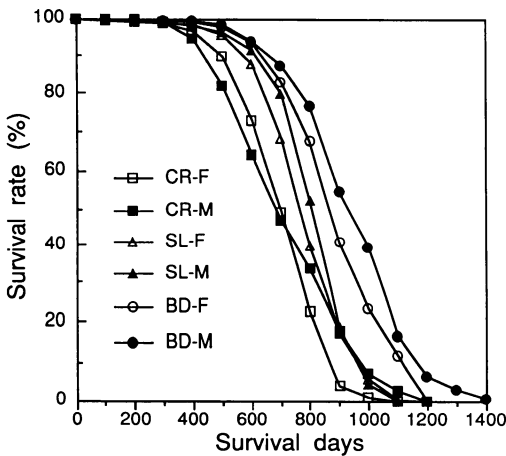


Fig. 1. Survival curves for CR, SL and BD

おきに合計雌1971匹, 雄1870匹, BDは同時期同様に雌1548匹, 雄1535匹をそれぞれ4週齢で購入した。SLは日本エスエルシー株式会社より1984年9月から1985年12月までに3ヵ月おきに合計雌1149匹, 雄1035匹を4週齢で購入した。前報 [13] で述べたようにこれらをバリ

ア内で育成, 老化研究用実験動物として3ヵ月より30ヵ月齢で各研究室に放出した。本研究では放出以前に自然死したCR雌535匹, 雄590匹, SL雌502匹, 雄463匹, BD雌298匹, 雄346匹の自然発生腫瘍の病理学的検索を行った。

バリア内における飼育条件はSPF, 室温22±2℃, 湿度55±5%, 5匹/ケージ(アルミケージ, 180×300×105mm), 明暗周期12時間である。飼料はCRF-1固形飼料(オリエンタル酵母工業製)の自由摂食, 給水は塩素(12±2ppm)塩酸(pH2.5~3.0)添加水で週2回の交換, ケージ交換は同様に週2回とした。

CR, BDについては腫瘍および肉眼的に異常を認めた臓器についてのみ, SLについては全例, 主要臓器を観察し腫瘍・非腫瘍病変 [13] を検索した。観察結果の集計, 寿命の推定, 累積発病(癌)率の余命表方式 [18] による計算には前報 [13] と同じくコンピュータ VAX 8350 (日本 DEC) を用い, SPSS プログラムにより行なった。

成 績

4週齢で購入しバリア内で飼育した全マウスから得

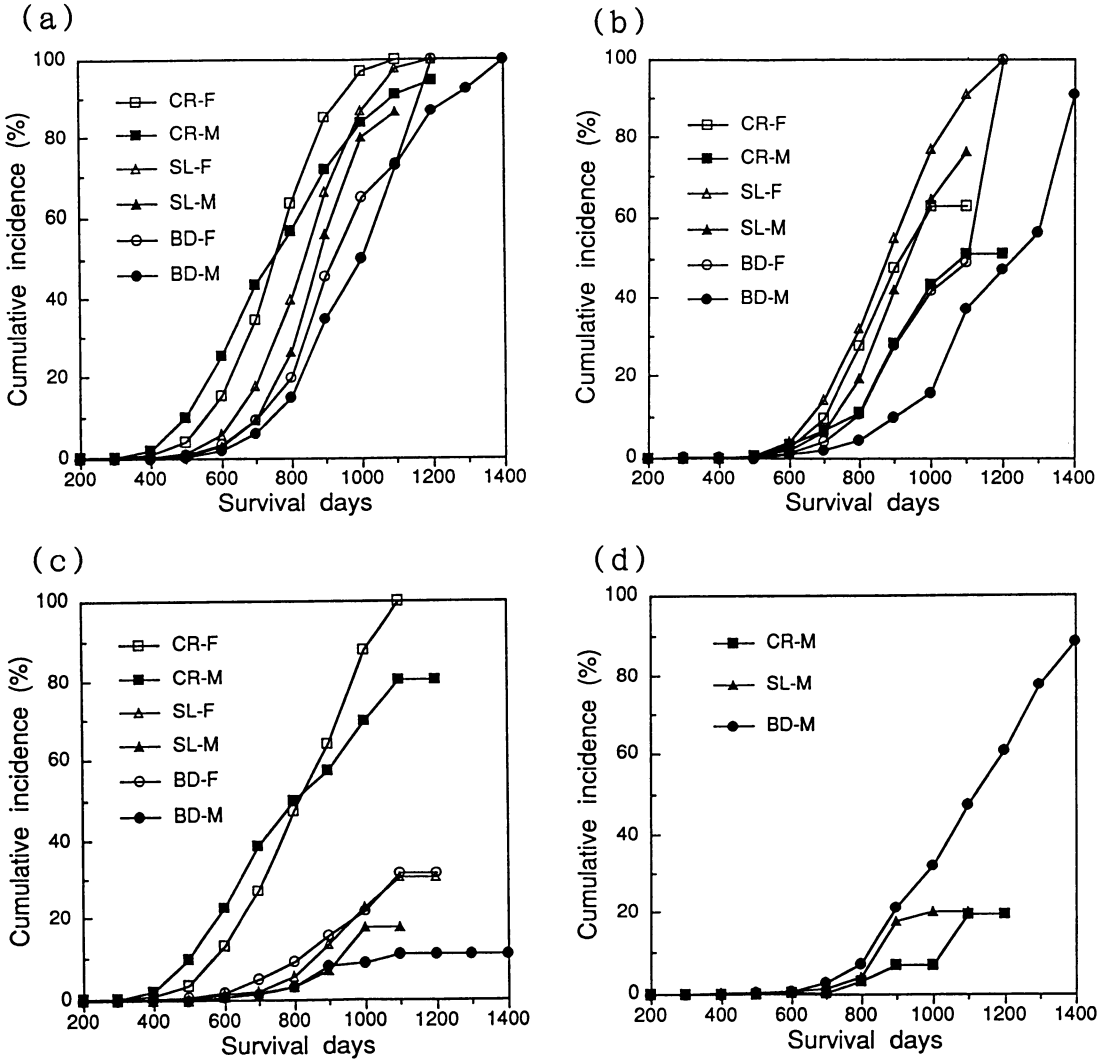


Fig. 2. Estimated cumulative incidence of (a) all tumors, (b) malignant lymphoma, (c) histiocytic sarcoma and (d) hepatocellular carcinoma in whole lifespan

た推定50%生存期間はCR雌697日（最長生存日数1026日）、雄680（1162日）、SL雌764日（1100日）、雄806日（1050日）、BD雌866日（1115日）、雄929日（1349日）であった（Fig. 1）。生存曲線は腫瘍の累積頻度（Fig. 2a）とよく相関した。

悪性リンパ腫、組織球性肉腫 [5, 6]、雄の肝細胞腫、雌の下垂体腺腫が比較的高率であった（Table 1）。CRでは腫瘍はSL, BDに比して早期より認められた（Fig. 2a）。悪性リンパ腫はDunn [2] の“type-2”に相当し、多くはリンパ節、回腸パイエル板、肝、脾、腎を侵

した。組織学的にはPattengaleら [15] の分類に従えばリンパ節原発のB細胞リンパ腫が多く、モノトーン型、混合型が主体であった。SLに最も多く、各群で雌に高頻度で、雄に比較して早期より認められた（Fig. 2b）。組織球性肉腫はDunn [2] の“type-1”に相当し、肉眼的に地図模様を示す肝腫大と血性腹水による腹部膨満を特徴とし、ほとんどが肝原発（Fig. 3a）であった。雌では子宮（Fig. 3b）もしばしば原発巣となつて（CR 43/291, SL 7/46, BD 57/74）、その際は腎近位尿管の硝子滴変性（Fig. 3c）をとまうことが特徴

Table 2. Details of other tumors in table 1

Strain Sex	Incidence (Number of Mice)					
	SL		CR		BD	
	F	M	F	M	F	M
Haderian Gland						
Adenoma	1		1	1		3
Hemangioma	9	5		2	6	6
Renal Tumors	1	2				7
Intestinal Tumors	2	2				
Uterus Tumors*	1		1		4	
Ovary Tumors	3				2	
Leydig Cell Tumor				6		1
Other Tumors	4	2	2	5	7	1
Total	21	11	4	14	19	18

* : Excluding histiocytic sarcoma

Table 3. Combination of organs with double tumors in CR (a), SL (b) and BD (c) mice

(a)	LS	HS	Liver	Lung	Pit	Subc	Other
LS	:	6	2	2	0	1	3
HS	4	:	1	9	0	1	5
Liver	1	0	:	1	0	0	0
Lung	3	3	0	:	0	0	1
Pituitary	3	4	0	1	:	0	0
Subcutis	5	3	0	0	0	:	0
Other sites	0	2	0	0	0	0	:
(b)	LS	HS	Liver	Lung	Pit	Subc	Other
LS	:	0	16	7	0	0	1
HS	7	:	1	9	0	1	5
Liver	12	0	:	1	0	0	0
Lung	8	3	0	:	0	0	0
Pituitary	6	4	0	1	:	0	0
Subcutis	8	3	0	0	0	:	0
Other sites	4	2	0	0	0	0	:
(c)	LS	HS	Liver	Lung	Pit	Subc	Other
LS	:	1	12	8	0	4	0
HS	5	:	8	2	0	0	0
Liver	6	3	:	21	0	8	4
Lung	4	2	2	:	0	0	0
Pituitary	3	1	3	1	:	0	0
Subcutis	8	3	3	0	0	:	0
Other sites	4	2	2	0	0	10	:

Note : Figures in the right upper half are for males, those in the left lower half are females. LS : malignant lymphoma HS : histiocytic sarcoma

的であった。この腫瘍はCRで他の群より早期に認められた (Fig. 2c)。

肝細胞腫瘍は雄に多く、寿命の長いBD, SLに高頻度 (Fig. 2d, Table 1) で、ほとんどが高分化型肝細胞癌 [4] であった。肺転移はBD雄で約25%, SL雄で約7%に認められた。肺の腺腫及び腺癌は730日齢以降で増加し、SLおよびBDに高頻度であった。下垂体腫瘍はほとんどが雌に観察され (Table 1), 組織学的には前葉の嫌色素性細胞腺腫であった。皮膚及び皮下腫瘍は基底細胞癌, 角化棘細胞腫, 線維腫および線維肉腫, 神経鞘腫, 乳腺線維腺腫などであった。さらに Table 2 に示す比較的稀な腫瘍が認められた。

担腫瘍マウスの一匹当たりの腫瘍数は加齢にともない増加した (Table 1)。多発腫瘍の発生臓器別組合せを Table 3 に示す。3種以上の腫瘍を有する動物は稀であった。

考 察

C57BL/6 マウスの本報告における推定50%生存期間はCR雌697日, 雄680日, SL雌764日, 雄806日であり, 春日ら [8] のC57BL/6雄との比較ではSLで約70日, CRで約200日短く, また他のSPFあるいはclean conventional な環境下で報告されているB6の寿命 [7, 11] に対しても短い傾向を示した。Goodrick [7] は4系統のマウスからの6系統のF₁はすべてその親より長寿命であったと報告したが, 本報告のC57BL/6とBDの比較でも, 同様にF₁が長寿命 (雌866日, 雄927日) であった (Fig. 1)。これらの差異を生じる大きな要因として, 系統にともなう, 更に同一系統においては由来にともなう自然発生病変の頻度の差異が考えられた。

マウスにおける自然発生腫瘍の頻度, 種類は系統によって異なる [12, 17] が, C57BLについてみても変動がある [8-10]。自然発生腫瘍の頻度についても慢性毒性実験や発癌実験の対照群による2年齢前後のデータ [1, 3, 14, 19] は多いが, 24ヵ月齢を越えるマウスの病理学的検索の報告は少ない [16]。今回の検索ではSLの腫瘍の頻度はCRより低く, また個々の腫瘍の比較ではCRで組織球性肉腫が高く, SLでは悪性リンパ腫の頻度が高かった (Table 1)。組織球性肉腫はC57BL/6では低頻度とされている (4.4%, [10]) が, 我々の成績では, SLでは低かった (雌9.2%, 雄6.3%) が, CRでは高頻度 (雌54.4%, 雄65.6% (Table 1)) であった。組織球性肉腫はCRの平均寿命が他の2群に比して短いことに大きく寄与した (Figs. 1, 2c)。春日ら [8] の報告によるC57BL/6雄の組織球性肉腫の頻度 (51.3%)

は CR のそれに類似したが、その50%生存期間はCRより約200日長かった。平均寿命が長いSLでは組織球性肉腫、悪性リンパ腫以外の腫瘍の頻度がCRと比較して高く、むしろBDと類似していることが注目された。

肝細胞腫瘍は雄に好発する腫瘍である[12]。この腫瘍はC3H系マウスで高いことはよく知られている[12, 20]。C57BL/6雄での発生率は1.0% [10]~12.5% [8]との報告があり、我々の成績(CR 2.0%, SL 雄9.5%)もほぼ同様であった。DBA/2では低い(1.5%, [17])が、BDの雄では40.4%と著しく高く、Yamateら[21]のBDF₁雄での42%と類似していた。

多発性腫瘍は加齢にともない増加し、雌に著明であったが、これは肺、下垂体、皮膚・皮下の腫瘍が寿命後半に偏ってみられたためであった。雄での多発性腫瘍は800日齢以後に認められた肝および肺の腫瘍の重複の影響が大きかった(Table 3)。担腫瘍マウス一匹当りの腫瘍保有数を春日ら[8]のC57BL/6雌についての報告と比較すると、その1.16に対してSL雄1.14, CR雄1.06, と差は認められなかった(Table 1)。

今回得られた結果では、2年齢以上で自然死したマウスは高率に腫瘍を有し(Fig. 2)、大半の例ではこれが死因と考えられた。系統に特徴的な腫瘍の発生時期は寿命に大きく影響し、発生が早いほど平均寿命は短かった(Fig. 2a, 2c)。しかし、最長寿命の比較では大きな差はなかった(Fig. 1)。

要 約

SPF条件下での老化動物育成過程で自然死したC57BL/6NCrj(CR, 雌535匹, 雄590匹), C57BL/6CrSlc(SL, 雌502匹, 雄463匹), C57BL/6NCrj×DBA/2NCrj F₁(BD, 雌298匹, 雄346匹)マウスの自然発生腫瘍の頻度を検討した。腫瘍はCR雌の77.4%, 雄の79.2%, SL雌の69.7%, 雄の55.1%, BD雌の75.8%, 雄の78.0%にみられた。2年齢以上生存したマウスは高率に腫瘍を有していた。最も長寿命のBDにおいては腫瘍死の頻度が最も高かった。頻発した腫瘍は悪性リンパ腫, 組織球性肉腫, 肝細胞癌, 肺腺腫・肺癌, 皮膚・皮下腫瘍などであった。悪性リンパ腫はSL(全腫瘍の62.3%)に, 組織球性肉腫はCR(72.1%)に, 肝細胞癌はBD雄(41.8%)に高頻度に認められた。

文 献

[1] Cameron, T. P., Hickman, R. L., Kornreich, M. R., and Tarone, R. E. (1985). History, survival, and growth patterns of B6C3F₁ mice and F344 rats in

- the National Cancer Institute carcinogenesis testing program. *Fundam Appl Toxicol*, **5**, 526-538.
- [2] Dunn, T. B. (1954). Normal and pathologic anatomy of the reticular tissue in laboratory mice, with a classification and discussion of neoplasms. *J. Natl Cancer Inst.*, **14**, 1281-1432.
- [3] Enomoto, M., Kobayashi, K., and Inoue, H. (1990). Significance of naturally-occurring tumors in evaluating the carcinogenicity of a test compound: A review and an improved carcinogenicity bioassay for chemicals. *J. Toxicol Pathol*, **3**, 1-17.
- [4] Frith, C. H. and Ward, J. H. (1980). A morphologic classification of proliferative and neoplastic hepatic lesions in mice. *J. Environ. Pathol Toxicol*, **3**, 329-351.
- [5] Frith, C. H. and Wiley, L. D. (1981). Morphologic classification and correlation of incidence of hyperplastic and neoplastic hematopoietic lesions in mice with age. *J. Gerontol*, **36**, 534-545.
- [6] Frith, C. H., Highman, B., Burger, G., and Sheldon, W. D. (1983). Spontaneous lesions in virgin and retired breeder BALB/c and C57BL/6 mice. *Lab. Anim Science*, **33**, 273-286.
- [7] Goodrick, C. L. (1975). Life-span and the inheritance of longevity of inbred mice. *J. Gerontol*, **30**, 257-263.
- [8] 春日 孟・野田悠子(1976). C57BL/6J-SPFおよびC3H/HeSPFマウスにおける放射線誘発腫瘍について. 第9回放射医研シンポジウム「発癌と遺伝障害」報文集, 18-29.
- [9] Kasuga, T., Sado, T., Noda, Y., Terashima, T., and Kitagawa, T. (1978). Radiation-induced tumours in C57BL/6JNrs [SPF] and C3H/HeMsnrs [SPF] strain male mice. In *Late Biological Effects of Ionizing Radiation*, Vol. 2, pp 29-41, International Atomic Energy Agency, Vienna
- [10] Kawada, K. and Ojima, A. (1978). Various epithelial and non-epithelial tumors spontaneously occurring in long-lived mice of A/St, CBA, C57BL/6 and their hybrid mice. *Acta Pathol Jap*, **28**, 25-39.
- [11] Kunstner, I. and Leuenberger, H.-G. W. (1975). Gerontological data of C57BL/6J mice. I. Sex differences in survival curves. *J. Gerontol*, **30**, 157-162.
- [12] Mitruka, R., Rawnsley, N. M., and Vadehra, J. W. (1976). Animal models in gerontology. In *Animals for Medical Research*. pp 425-462, Mitruka, R., Rawnsley, N. M., and Vadehra, J. W. (edit.), Wiley, J. & Sons, Inc., New York.
- [13] 仲村賢一・倉本和直・柴崎公子・朱宮正剛・大坪浩一郎(1992). SPF下に長期飼育されたマウスC57BL/6の非腫瘍性自然発生病変. *実験動物*, **41**, 269-278.
- [14] Ohtsubo, K., Ryu, J. C., Nakamura, K., Izumiyama, N., Tanaka, T., Yamamura, H., Kobayashi, T., and Ueno, Y. (1989). Chronic toxicity of nivalenol in female mice: A 2-year feeding study with *Fusarium nivale* fn 2 B-moulded rice. *Food Chem Toxicol*, **27**, 591-598.
- [15] Pattengale, P. K. and Frith, C. H. (1983). Immunomorphologic classification of spontaneous lymphoid cell neoplasms occurring in female BALB/c mice. *J. Natl Cancer Inst.*, **70**, 169-179.
- [16] Rowlett, C., Chesterman, F. C., and Sheriff, M. U. (1976). Lifespan, age changes and tumour incidence

- in an ageing C57BL mouse colony. *Lab. Anim.*, **10**, 419-442.
- [17] Smith, G. S., Walford, R. L., and Mickey, M. R. (1973). Lifespan and incidence of cancer and other diseases in selected long-lived inbred mice and their F₁ hybrids. *J. Natl. Cancer Inst.*, **50**, 1195-1213.
- [18] 螺良義彦 (1971). 自然発癌率の算出法と DD 系マウスの自然発生乳癌での実例, *実験動物*, **20**, 33-36.
- [19] Ward, J. M., Goodman, D. G., Squire, R. A., Chu, K. C., and Linhart, M. S. (1979). Neoplastic and nonneoplastic lesions in aging (C57BL/6N×C3H/HeN) F₁ mice. *J. Natl. Cancer Inst.*, **63**, 849-854.
- [20] Ward, J. M. and Vlahakis, G. (1978). Evaluation of hepatocellular neoplasms in mice. *J. Natl. Cancer Inst.*, **61**, 807-811.
- [21] Yamate, J., Tajima, M., Kudow, S., and Sannai, S. (1990). Background pathology in BDF₁ mice allowed to live out their life-span. *Lab. Anim.*, **24**, 332-340.

Explanation of Figures

Fig. 3. Histiocytic sarcoma. (a) Liver. Nodular masses of neoplastic cells compress and invade the normal liver structure. (b) Uterus.

Neoplastic cells are spindle-shaped. (c) Associated hyaline droplet degeneration of the proximal tubules of the kidneys. H & E

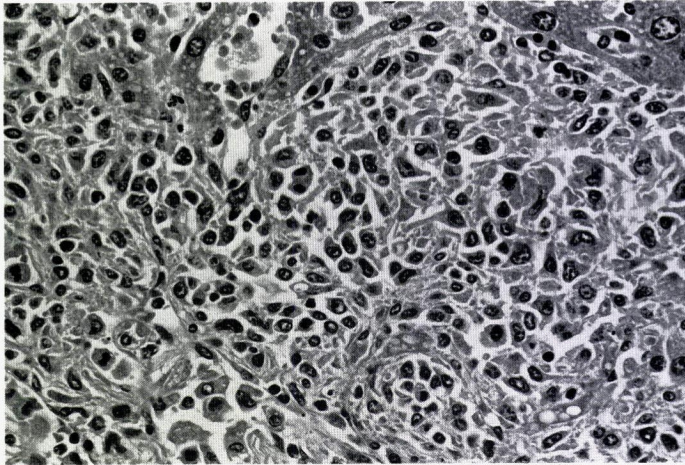


Fig. 3a.

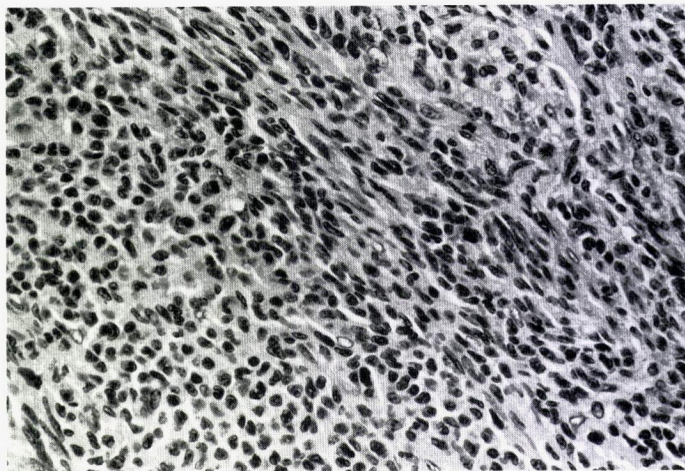


Fig. 3b.

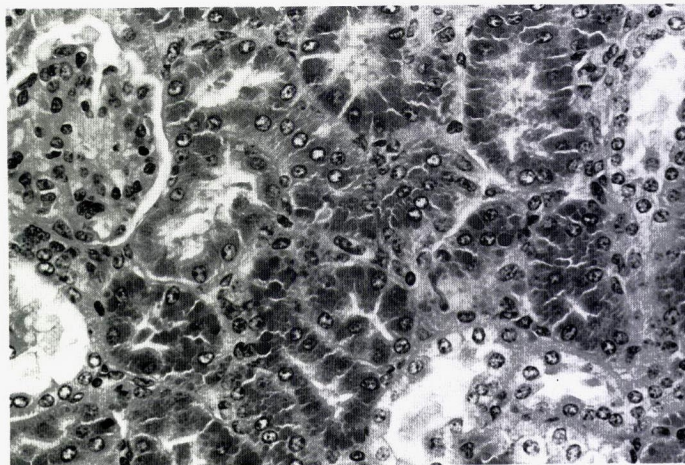


Fig. 3c.