

2. 2. 2 予備的検討 (免疫組織化学的検索)

Effects of *In Utero* Low Dose-rate Gamma-ray Exposure in B6C3F1 Mice – Preliminary Study (Immunohistochemistry) –

山内 一己, 田中 聡, 小村 潤一郎
生物影響研究部

Kazumi YAMAUCHI, Satoshi TANAKA, Jun-ichiro KOMURA
Department of Radiobiology

Abstract

Apoptosis and cell proliferation were analyzed using the TUNEL assay and anti-Ki67 immunostaining, respectively, in brains of murine fetuses irradiated with γ -rays at 770 mGy/min (high dose-rate) on gestation day 13 (total dose: 2000 mGy), at 400 mGy/day (middle dose-rate) from day 0 to day 13 (total dose: 5200 mGy), or at 20 mGy/day (low dose-rate) from gestation day 0 to day 13 (total dose: 260 mGy). Apoptosis was induced by the high and middle dose-rate irradiations but not by the low dose-rate irradiation. Distribution patterns of proliferating cells were disturbed by the high dose-rate irradiation but not by the middle and low dose-rate irradiations. Thus, apoptosis and cell proliferation appear to be appropriate indicators for comparing the effects of high, middle, and low dose-rate irradiation *in utero*.

1. 目的

母体内における低線量率放射線連続被ばく影響の発現機序に関する手がかりを得ることを目的として、マウス胎仔組織におけるアポトーシス (細胞死) や細胞の増殖を調べる。

これまでの諸研究により胎齢 10~13 日 (器官形成期) の脳が、高線量率放射線に高感受性であることが分かっていることから、本年度は、胎齢 13 日に高線量率 (770 mGy/分) γ 線を総線量 2000 mGy 急照射したマウスを陽性コントロールとし、中線量率 (400 mGy/日) と低線量率 (20 mGy/日) の γ 線を胎齢 0 日から 13 日まで連続照射 (総線量はそれぞれ、5200 mGy、260 mGy) したマウス胎仔の脳におけるアポトーシスと細胞増殖を組織化学的手法を用いて検索し、これらの指標の有用性を検討した。

2. 方法

C57BL/6J 系統のメスマウスと C3H/HeJ 系統のオスマウスを交配し、産仔が見られた日を胎齢 0 日とした。低線量率 (20 mGy/日) 群ならびに中線量率 (400 mGy/日) 群は、胎齢 0 日から 13 日まで γ 線照射を行った。非照射群、低線量率ならびに中線量率群は、胎齢 13 日目に安楽死させ

た。高線量率 (770 mGy/分) 群は、胎齢 13 日目に 2000 mGy の γ 線を照射し、24 時間後に安楽死させた。子宮内より摘出した胎仔は PBS で洗浄したのち、10% 中性緩衝ホルマリン液で一晩固定しパラフィン包埋を行い、4 μ m 厚の薄切標本を作製した。

アポトーシスは TUNEL 法により検出し、増殖細胞の検出は、抗 Ki67 抗体を用いて行った。それぞれの陽性細胞は、DAB で染色した。また、細胞核はメチルグリーン (TUNEL 法) もしくはヘマトキシリン (抗 Ki67 抗体染色) で染色した。

3. 成果の概要

TUNEL 法を用いたアポトーシス解析では、胎齢 13 日に高線量率 γ 線を急照射し 24 時間経過した胎仔脳で、顕著な数のアポトーシス陽性細胞が観察され、また細胞の並び方に変化が認められた (Fig. 1-B)。胎齢 0 日から 13 日まで中線量率 γ 線を連続照射したマウスでは、少数のアポトーシス陽性細胞が検出されたが、細胞の並び方に顕著な変化は見られなかった (Fig. 1-C)。胎齢 0 日から 13 日まで低線量率 γ 線を連続照射したマウスでは、アポトーシス陽性細胞はほとんど検出されず、また細胞の並び方に顕著

な変化は見られなかった (Fig. 1-D)。

抗 Ki67 抗体を用いた解析では、増殖細胞は、非照射群のマウスの場合、脳室帯でのみ観察された (Fig. 1-A)。また、低線量率及び中線量率連続照射群でも、同様に脳室帯でのみ観察された (Fig. 1-C, D)。一方、高線量率急照射群では、増殖細胞は大脳皮質に分散して観察された (Fig.

1-B)。

以上の結果より、アポトーシスや細胞増殖の組織化学的解析は、高線量率、中線量率放射線の影響を調べるには有用な指標となるが低線量率放射線の影響を検討するには適当でないと考えられる。

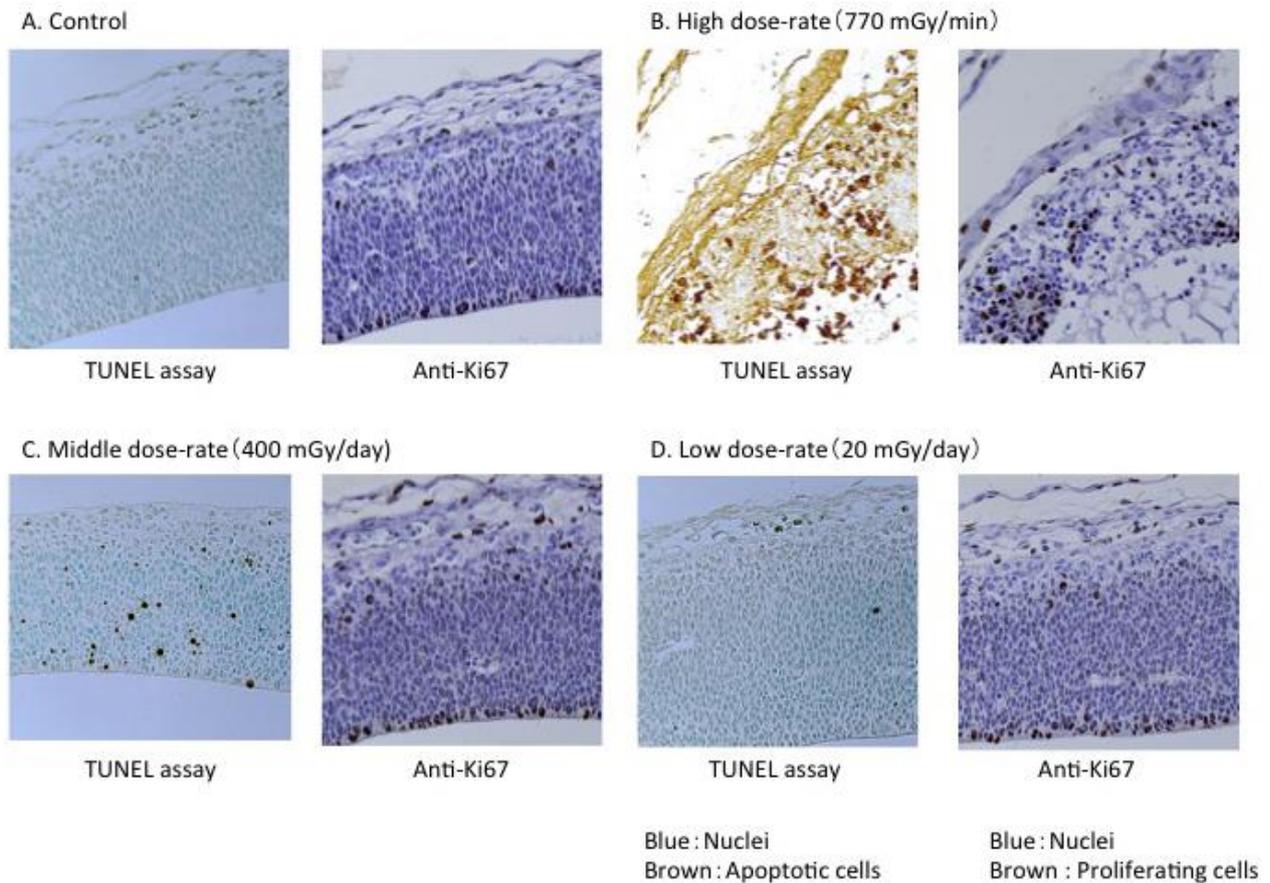


Fig. 1 Effects of high, middle, and low dose-rate irradiations detected by the TUNEL assay and Anti-Ki67 immunostaining in the brain of murine fetuses.