

2.2 母体内における低線量率放射線被ばく影響実験調査

Effects of *In Utero* Low Dose-rate Gamma-ray Exposure in B6C3F1 Mice

中平 嶺, 田中 イグナシヤ, 小村 潤一郎, 田中 聡
生物影響研究部

Rei NAKAHIRA, Ignacia TANAKA, Jun-ichiro KOMURA, Satoshi TANAKA
Department of Radiobiology

Abstract

Detailed histopathological analyses of germ cells and gonads were carried out in FY2017. Images of sectioned gonads (stained with HE and immunostained with anti-MVH antibody), collected from fetuses on gestation day 18 and from 10-week-old mice exposed to gamma-rays at dose-rates of 20, 200 and 400 mGy/day, were used to count the number of germ cells (MVH positive staining cells). The number of germ cells, in both males and females, at gestation day 18 and at 10 weeks of age, were drastically decreased in the 200 mGy/day irradiation group and were scarcely observed in the 400 mGy/day irradiation group. The average sizes of both testes and ovaries of fetuses in the 200 mGy/day and the 400 mGy/day groups were considerably smaller than the non-irradiated controls. In the 20 mGy/day irradiation group, however, there was no significant change in the number of germ cells as well as in the size (cross-sectional area) of the gonads as compared to the non-irradiated group. Histopathological examination showed that testes from the 200 and 400 mGy/day groups had many seminiferous tubules with no germ cells. Many ovaries from these same groups did not show any normal structures.

We have started experiments to examine reproductive function in these mice exposed to radiation *in utero*. Breeding experiments were conducted on mice exposed to 200 mGy/day gamma-rays with matching non-irradiated controls. While 100% of the non-irradiated controls (both sexes) were fertile, only 6.25% of the females and none of the males exposed to 200 mGy/day were fertile.

Investigations on the long-term effects of *in utero* exposure are currently in progress. As of March 31, 2018, no significant difference in survival rates was observed between experimental groups.

1. 目的

母体内、すなわち発生初期から胎児期にかけての時期における被ばくの影響については、社会的にも重要と考えられている。しかし、この時期における被ばくの影響に関する知見は多くはなく、それも高線量率放射線に関するものがほとんどであって、低線量率の放射線を連続的に被ばくした場合の影響に関するものは極めて少ない。そこで、平成 27 年度から 5 か年にわたって行う本調査では、母体内における低線量率放射線長期被ばくの健康影響を

評価する際の科学的根拠となるデータを得ることを目的として、低線量率放射線をマウスの受精から出生までの全期間もしくは一部の期間に連続照射し、胎仔の生死、外表奇形などの出生前までに現れる影響及び成獣に達した時点までに現れる影響を調査する（短期影響解析）。また、出生後の終生飼育も行ない、寿命、死因、発がんなどに関する長期的影響を調査する（長期影響解析）。調査 3 年目にあたる平成 29 年度には、前年度に引き続いて「短期影響解析」における生殖腺の組織学的解析を行う

とともに、機能解析実験を開始した。また、「長期影響解析」における飼育の継続および死亡動物の病理解析を実施した。

2. 方法

実験には、環境研において寿命、死因、発がん率などに関して豊富なデータを有する動物である B6C3F1 系統マウス（メス親 C57BL 系統、オス親 C3H 系統）を用いることとし、オス 1 匹に対しメス 1 匹を同じケージ内で同居・交配し、膣栓の形成が見られたメスマウスに照射を行った。

2.1 短期影響解析

【生殖腺の組織学的解析】受精から出生までの全期間にわたる低線量率（20 mGy/日×18 日間、総線量 360 mGy）、中線量率（200 mGy/日×18 日間、総線量 3,600 mGy 及び 400 mGy/日×18 日間、総線量 7,200 mGy）の γ 線照射を行い、非照射群を含めた 4 群について出生直前（胎齢 18 日）に胎仔を検索した。胎仔生殖腺について性腺の面積や生殖細胞数を計測し、解析を行った。また、昨年度までに得られた 10 週齢時検索群の性腺についても同様に組織切片を用いて解析を行った。

【生殖機能解析】受精から出生までの全期間にわたる中線量率（200 mGy/日×18 日間、総線量 3600 mGy）の γ 線照射を行った照射群および非照射群のマウスについて、8 週齢時に交配を行い、生殖能を評価した。

2.2 長期影響解析

妊娠メスマウスに受精から出生までの全期間（18 日間）にわたり低線量率 0.05 mGy/日（総線量 0.9 mGy）、1 mGy/日（総線量 18 mGy）、20 mGy/日（総線量 360 mGy）及び中線量率 400 mGy/日（総線量 7,200 mGy）の γ 線の連続照射を行い、非照射群を

含めて 5 群のマウスを得、終生飼育を継続し、体重測定及び死亡動物の病理解析を実施した。

3. 成果の概要

3.1 短期影響解析

【生殖腺の組織学的解析】MVH（生殖細胞マーカー）に対する抗体を用いて免疫染色を行い、解析を行った。その結果、胎齢 18 日目の精巣において、精巣全体に占める精細管の割合は、200 mGy/日、400 mGy/日照射群では非照射群に比べ有意に減少、20 mGy/日照射群についても減少傾向がみられた。また、精巣・卵巣ともに、単位面積当たりの生殖細胞数は、200 mGy/日、400 mGy/日照射群では非照射群に比べ有意に減少、20 mGy/日照射群についてもわずかに減少傾向がみられた（Fig. 1）。10 週齢時の精巣では、200 mGy/日および 400 mGy/日照射群では、生殖細胞の存在する精細管の割合はそれぞれ顕著に減少あるいは全く認められなかった。

【生殖機能解析】非照射群ではすべての仔マウスで妊娠が確認された（妊娠率：オス・メスともに 100%）のに対し、胎仔期中線量率放射線照射を受けたマウスではメスマウス 1 匹において子宮着床痕が認められたのみ（妊娠率：オス 0%、メス 6.25%）で、出産には至らず（Table 1）、中線量率放射線照射群の卵巣組織切片上で僅かに認められた数の生殖細胞数では出産までは至らないことが確認された。

3.2 長期影響解析

照射群及び非照射群マウスの終生飼育を継続し、体重測定及び死亡マウスの病理学的検索を実施した。

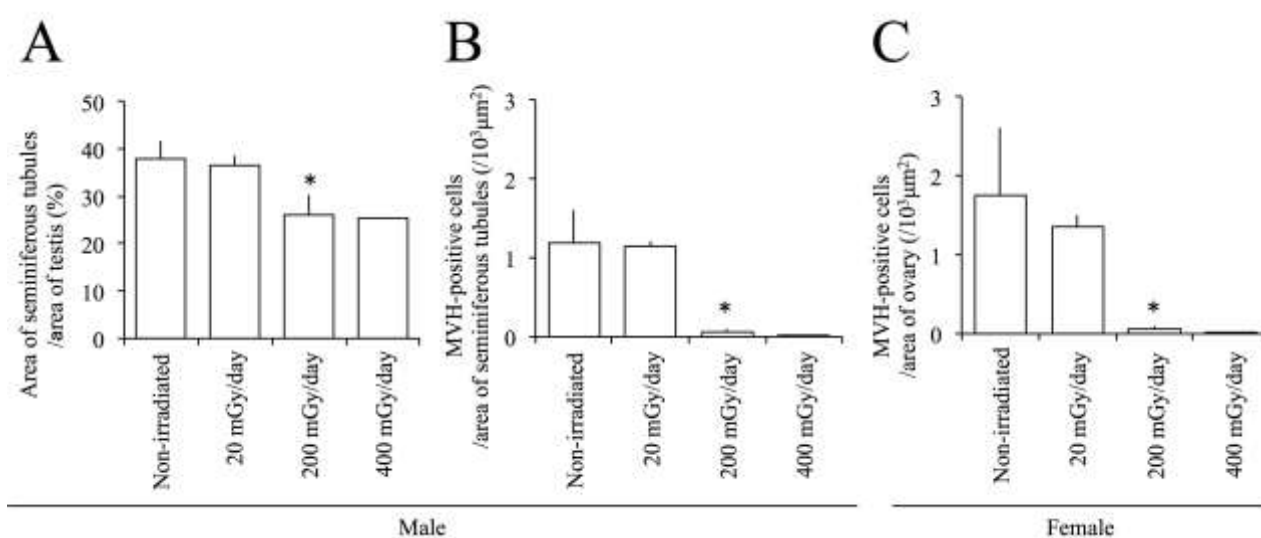


Fig.1 Results of histological analysis of fetal gonads. Ratio of seminiferous tubule area in testis (A), number of MVH-positive cells in testis (B) and number of MVH-positive cells in ovary (C). The numbers of the litters used in this analysis were as follows: 4 (Non-irradiated), 4 (20 mGy/day), 7 (200 mGy/day) and 3 (400 mGy/day). Mean \pm SD, *: $P < 0.05$ vs. Non-irradiated.

Table 1 Results of examination of reproductive functions in B6C3F1 mice exposed to medium dose-rate gamma-rays *in utero*.

	Non-irradiated		200 mGy/day	
	Male	Female	Male	Female
Number of litters	3		3	
Total no. of F ₁ mice	13	13	9	16
No. of pregnant mice	13	13	0	1
Pregnancy rate (%)	100	100	0	6.25
Average no. of implantation sites/dam	9.15 \pm 1.68	9.23 \pm 0.927	0	0.0625 \pm 0.250
Average no. of F ₂ mice born/litter	8.31 \pm 2.21	8.85 \pm 0.987	0	0
Average no. of weaned F ₂ mice/litter	7.46 \pm 2.67	8.85 \pm 0.987	-	-
Male	3.54 \pm 1.71	3.15 \pm 1.28	-	-
Female	3.92 \pm 1.93	4.69 \pm 0.855	-	-
No. of F ₂ mice born/No. of implantation sites (%)	89.6 \pm 12.6	96.9 \pm 8.53	-	0
Weaning rate (%)	91.2 \pm 22.1	100	-	-