

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

For the second year of study, pregnant mice were irradiated with gamma-rays at medium dose-rates (MDRs) of 200 or 400 mGy/day for the entire gestation period (18 days, total doses: 3600 or 7200 mGy, respectively), or at a high dose-rate of 770 mGy/min at 11 days post-coitus (period of organogenesis, total dose: 2000 mGy). All fetuses from the irradiated groups had significantly smaller body sizes, and the extent of reduction in body size increased as the dose rate increased. Ossification was significantly retarded in the 400 mGy/day and 770 mGy/min irradiation groups (Table 1). Embryonic gonadal cells in gestation day (GD) 15 fetuses exposed to 200 and 400 mGy/day from GD 6 to 15 were stained with DDX4/MVH (protein expressed in germ cells) and counted. Results show a significant decrease in the number of DDX4/MVH positive cells in both males and females (Table 2). These results suggest that radiation exposure at MDRs from GD 6 to 15 strongly inhibits either one or all of the processes (differentiation of primordial germ cells, migration to the reproductive tract or proliferation in the gonads) in the developing fetuses. Previous work also found similar findings in the gonads of irradiated fetuses at 10 weeks of age. To investigate the long-term effects, mice born after in utero exposure are currently being studied with corresponding non-irradiated control mice.

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2年目にあたる平成28年度には、前年度に引き続いて「短期影響解析」を行うとともに、前年度に決定した照射条件等を用いて、「長期影響解析」のための照射を行い、生まれてきた仔マウスの終生飼育を開始した。

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

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 3600 mGy 及び 400 mGy/日×18日間、総線量 7200 mGy）の γ 線照射、もしくは胎齢 11 日目に高線量率（770 mGy/分×2.6分、総線量 2000 mGy）照射を行い、出生直前（胎齢 18 日）に胎仔を検索した。また、生後 10 週齢検索群を設定し、病理学的検索を実施した。加えて、胎齢 6 日から胎齢 15 日目または 18 日目まで、中線量率（200 mGy/日、総線量 1800 mGy または 2400 mGy 及び 400 mGy/日、総線量 3600 または 4800 mGy）の γ 線照射を行い、胎齢 15 日目に胎仔を検索し、生殖細胞数を計測した。

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）、あるいは中線量率 400 mGy/日（総線量 7200 mGy）の γ 線の連続照射を行い、非照射群を含めて 5 群の仔マウスを得、終生飼育を開始した。

3. 成果の概要

3.1 短期影響解析

200 mGy/日、400 mGy/日及び 770 mGy/分照射群では、体格が有意に小さく、その程度は線量率が高い群ほど著しかった。骨格標本を作製して骨化状態を観察したところ、400 mGy/日及び 770 mGy/分照射群で骨化遅延が顕著であった（Table 1）。200 mGy/日及び 400 mGy/日を胎齢 6～15 日までの期間連続照射した胎仔について、胎齢 15 日目に胎仔生殖腺を、DDX4/MVH（生殖細胞で発現するタンパク質）に対する抗体を用いた免疫染色によって解析した結果、オス、メスともに、顕著な生殖細胞の減少が認められ（Table 2）、この時期の中線量率照射により、始原生殖細胞の分化、生殖堤への移動及び生殖腺における増殖のいずれかの段階が強く阻害されている可能性が示唆された。また、この生殖腺への影響は生後 10 週齢時にも確認された。

3.2 長期影響解析

照射群への γ 線の連続照射を実施し、非照射群を含めた 5 群の仔マウスの終生飼育を開始した。

Table 1 Ossification in B6C3F1 fetuses on gestation day 18.

	Non-irradiated (0 mGy) ^a n = 47 n (%)	20 mGy/day (360 mGy) ^a n = 37 n (%)	200 mGy/day (3600 mGy) ^a n = 46 n (%)	400 mGy/day (7200 mGy) ^a n = 31 n (%)	770 mGy/min (2000 mGy) ^a n = 36 n (%)		
Metacarpal							
8	47 (100)	37 (100)	46 (100)	19 (61)	**	19 (52)	**
<8	0	0	0	11 (36)	**	17 (47)	**
Absent	0	0	0	1 (3.2)		0	
Metatarsal							
10	46 (98)	35 (95)	42 (91)	12 (39)	**	19 (53)	**
<10	1 (2)	2 (5)	4 (9)	15 (48)		12 (33)	
Absent	0	0	0	4 (13)	*	2 (6)	
Tarsal							
10	7 (15)	1 (3)	1 (2)	0	*	2 (6)	
8	37 (79)	35 (95)	38 (83)	3 (10)	**	2 (6)	**
<8	2 (4)	1 (3)	1 (2)	2 (7)		16 (44)	**
Absent	1 (2)	0	6 (13)	26 (84)	**	16 (44)	**
Calcaneus							
2	30 (64)	29 (78)	18 (39)	0	*	3 (8)	**
1	3 (6)	0	0	0		0	
Absent	14 (30)	8 (22)	28 (61)	31 (100)	**	33 (92)	**
Sternebrae							
6	47 (100)	36 (97)	46 (100)	23 (74)	**	33 (92)	**
<6	0	1 (3)	0	5 (16)	**	2 (6)	
Absent	0	0	0	3 (10)		1 (3)	
Coccygeal Vertebrae							
13	0	1 (3)	0	0		0	
11	1 (2)	1 (3)	1 (2)	0		0	
10	2 (4)	0	0	0		1 (3)	
9	6 (13)	4 (11)	3 (7)	0		2 (6)	
8	18 (39)	18 (49)	10 (22)	0	**	0	**
<8	20 (43)	13 (35)	32 (70)	31 (100)	**	33 (92)	**
Absent	0	0	0	0		0	

^a Total dose

*, P<0.05, **: P<0.01 vs. Non-irradiated

Table 2 No. of DDX4/MVH positive cells per 0.004 mm² in B6C3F1 fetal gonads on gestation day 15.

	Non-irradiated (0 mGy) ^a	200 mGy/day (3600 mGy) ^a	400 mGy/day (7200 mGy) ^a		
Male	8.8±2.9 (n=20)	0.3±0.2 (n=8)	**	0.003±0.009 (n=13)	**‡
Female	14.4±3.4 (n=12)	1.2±1.0 (n=10)	**	0.02±0.04 (n=12)	**‡

^a Total dose

**‡; P<0.01 vs. Non-irradiated, ‡; P<0.01 vs. 200mGy/day