

Title	センチニクハエ蛹の呼吸に対するX線の抑制作用
Author(s)	佐藤, 周子; 佐々木, 俊作; 栗冠, 正利
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1966, 26(9), p. 1180-1183
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/16949
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

センチクハエ蛹の呼吸に対する X 線の抑制作用

東北大学医学部放射線基礎医学教室

佐藤 周子, 佐々木 俊作, 栗冠 正利

(昭和40年3月28日受付)

Effects of X-rays on respiration of *Sarcophaga* pupae.

by

C. Sato, S. Sasaki & Prof. M. Sakka

Tohoku University School of Medicine.

Age-specific amount of oxygen consumption of pupal *Sarcophaga* makes a U-shape curve of respiration and ascending part during latter half of pupal stage was inhibited by X-rays. When measured on the eighth day of pupae, inhibition of respiration responded differently with dose and age at which the dose was given. Within 24 hours after puparium formation, respiration was very sensitive to inhibitory effects of radiation but when irradiated on 4th day of pupal development, it was quite insensitive. Sensitive component of respiration decreased exponentially with age and mean effective dose of inhibition increased exponentially with age (0—4 days). During this period, fraction of isolated myoblasts in muscle tissue also decreased with age. Inhibition of respiration of one day old pupa was significantly related with decrease in protein of giant mitochondria of flight muscles.

放射線感受性が発生初期に高く令が進むに随つて低下する現象は多くの生物系で知られている。発生過程中には細胞分裂と組織分化が同時に進行している所以このような複雑な系の放射線感受性を量的に取扱う事は容易で無い。蛹後半期の呼吸量は令と共に増加しこの増加は放射線に依つて抑制され抑制程度は照射時の蛹令に依存する¹⁾。これらの関係を定量化し抑制に関連ありとみられる細胞の変化を捉えようと試みて本実験を行なつた。

材料と方法

センチクハエの性質や飼育法は既に前報に詳しい²⁾。蛹を蛹化後2時間令毎に区別して実験に供した。

照射は50kVp X線, TSD21cm, 標本は直径7cmパラフィン皿上に一層に並べ背後に1mm厚鉛板をおいて行なつた。計量はソフテクス株式会社においてシーメンス社およびビクトリーン社製指

帽型軟線用イオン箱を以て行ない上記照射条件で空気中照射量460R/分を示した。本装置から放出される軟線の吸収線量を推定する方法が確立されていないので本論文では吸収線量を用いず照射量だけを示す。

呼吸量はワールブルク検圧計で蛹1個の呼吸を25°Cで測定し30分当りの $\mu\text{l O}_2$ で示した。1実験点を得るのに7~28匹を用いた。

アクトミオシン量は Huxley-Hanson³⁾ 法で抽出しマイクロキエルダール法で窒素を定量して換算した。

ミトコンドリアは組織を缺で細切後氷冷0.34M庶糖溶液(0.05MEDTAを含む)中でホモジナイズし0°Cで300—800×g, 10分で沈澱する部分と800—1300×g, 10分で沈澱する部分に分画すること各々3回行つた。各分画浮遊液1ccをとりマイクロキエルダール法で窒素を定量した。300—800×g分画には飛翔筋ミトコンドリアの70—

80%を含む。

オートラジオグラフ法は、蛹腹部に 0.5 μ Ci の 3 H-TdR 注射後27°Cで3時間放置しアルコールブアン固定、パラフィン切片を5%PCAで30分処理、さくらNR-MIのディピンング法で4週間露光し細胞核当り銀粒子4個以上のものを取込み陽性とした。

組織標本につき筋芽細胞が全筋肉細胞中で占めて居る割合を計数した。筋肉細胞は融合して細胞を1個宛区別できないので、止むを得ず筋肉組織の中の核数を数えこれで細胞数を代表させた。

単離筋芽細胞分率⁴⁾および 3 H-TdR 取込み率は筋肉組織の分化の程度の指標として用いたのである。

成績

蛹1個当り単位時間当り呼吸量は蛹化直後最高で3日令迄減少する。比時期は幼虫組織融解が主として起こっている。3ないし5日令の呼吸量は全蛹期間中最小である。この時期には幼虫組織融

解と共に成虫組織形成が進行している。5日令以後は呼吸量は時間令に対して指数的に上昇しこの上昇は成虫組織形成を示している。蛹期前半照射は幼虫組織融解過程には影響を及ぼし難く之に反して成虫組織形成過程は著しい影響を受ける。呼吸上昇抑制は蛹令が低い程、又、照射量が大きい程大きい。蛹令0—98時間、照射量0—27.6kRの範囲の効果を羽化直前の呼吸量測定資料として表1に示した。照射量がこの値より更に大きい場合、および観察時期を羽化直前から更にあとまで伸ばした場合の効果は別に述べる。

蛹化後0—2時間で照射し192—194時間で測定した呼吸量は照射量に対して指数的に反応した。併し96—98時間令以後の蛹は27.6kRまでの照射に対して呼吸抑制を示さない。0—98時間令蛹呼吸反応は照射に対し指数的減少(高感受性)部分と照射に対して抑制を示さぬ低感受性部分を含んでいる。全呼吸量中高感受性部分が占める割合は蛹令と共に減少し高感受性部分抑制平均線量

Table 1. Effects of X-rays delivered at different pupal ages on oxygen consumption measured immediately before inago formation (μ l O₂ for 30 min).

Age of irradiation	Exposure in kR					
	0	1.4	2.3	4.6	13.8	27.6
0—2	20.5 \pm 2.5	12.5 \pm 2.5	8.0 \pm 2.0	2.3 \pm 2.0		
24—26		13.4 \pm 2.5	11.4 \pm 1.5	5.8 \pm 0.6	7.0 \pm 0.8	7.4 \pm 0.8
48—50		16.2 \pm 2.0	13.6 \pm 1.0	11.0 \pm 1.0	8.8 \pm 0.8	9.0 \pm 0.8
72—74		18.5 \pm 1.5	16.5 \pm 1.2	16.0 \pm 1.5	12.6 \pm 1.0	12.0 \pm 1.0
96—98		21.5 \pm 1.5	22.0 \pm 1.5	20.5 \pm 1.0	19.0 \pm 2.5	20.5 \pm 2.0

Table 2. Radiosensitive component in inhibitory effects on pupal respiration at different pupal ages.

Pupal age (hours)	Radiosensitive component		
	%	D ₃₇ (kR)	Relative radiosensitivity
0—2	100	2.4	100
24—26	62	3.7	65
48—50	54	6.9	35
72—74	38	10.8	22

D₃₇は令と共に増大する。この関係を表2に示した。

呼吸抑制に関する放感性変動を反映する細胞のうち我々は飛翔筋細胞を考えた。之をとり上げる理由は(1)飛翔筋は解剖学的にみて8日蛹の全筋肉の過半量を占めており、かつ飛翔筋は8日蛹の臓器中最大質量を持つものの一つであること、(2)蛹令の進行に伴うアクトミオン量増減は呼吸量増減と平行していること、(3)飛翔筋ミトコンドリアの呼吸活性は他の組織のその値より遙かに高いことによる。呼吸抑制の高感受性部分の減少は令が進むに従って著しい。この現象は筋肉

Table 3. Dese-effect relations of mitochondrial protein of 192 hour old pupae (mg for 10 pupae). Exposure was given at 0—2 hours of pupal age.

Exposure in kR	0	1.4	2.3	4.6	13.8
Fractions					
Total ⁺	26.2	22.8	20.9	13.8	12.0
800—1300 × g ⁺	11.7 ± 3.2	10.8 ± 2.9	10.4 ± 2.2	11.2 ± 3.0	10.5 ± 2.1
300— 800 × g ⁺	14.5 ± 1.3	12.0 ± 0.9	10.5 ± 1.4	2.6 ± 1.2	1.5 ± 0.6
Respiration [§]	20.5 ± 2.5	13.4 ± 2.5	11.4 ± 1.5	5.8 ± 0.6	7.0 ± 0.8

+, mg protein/10pupae. §, $\mu\text{l O}_2$ /pupa for 30min. Difference between 300-800 fraction and respiration; $X^2=6.53$, D.F. =4, $0.20 > P > 0.10$

Table 4. Variation of radiosensitive component and other biological parameters during pupal development.

Age in hours	0	24	36	48	72	96		
Radiosensitive component (%)	100	62		54	38	0	$X^2 = 3.14$ D.F. = 3 ← $0.01 > P$ $P > 0.001$ $X^2 = 28.54$ D.F. = 6 $P > 0.001$	
Relative radiosensitivity (%)	100	65		35	23	0		
Single myoblasts in muscular tissue (%)			93	70	21	1		$X^2 = 7.32$ D.F. = 3 ← $0.10 >$ $P > 0.05$
³ H-TdR labeling index of muscular cells (%)			72	66	9	0		

組織分化と関連している。それは次の測定から推論できるのである。1つは単離筋芽細胞の挙動である。成虫組織形成のはじめには成虫芽の組織芽細胞が分裂して筋芽細胞に転じ発生が進むと筋芽細胞が融合して筋肉組織をつくる⁵⁾。発生進行と共に全筋肉中に占める単離筋芽細胞百分率を以て筋肉分化の指標とすることができる。2つは筋肉細胞³H-TdR 取込み(標識指数)である。筋芽細胞だけが取込み陽性で、融合した筋肉細胞は取込まないので細胞の分化が進めば標識指数は小さくなる。単離筋芽細胞百分率、筋肉細胞標識百分率、呼吸抑制高感受性部分百分率および相対放射線感受性(高感受性部分の D_{50} の逆数の比)を求めそれらの値の差の有意性を検定して表3に示した。

時間令が進むに随ってこれらの生物学的活性は低下し放射線感受性と筋肉分化とは関連があるかの如く見える。カイ2乗検査の結果相対放射線感受性と分化のパラメータとの間に差がある場合があるがこのことは感受性低下と筋肉分化が無関係

であると言う意味ではない。何となれば呼吸抑制高感受性部分は減少しながらその相対感受性をも低下させている。いわば母集団の性質が時間と共に変動しているのである。このような場合カイ2乗検査が適当な手段を提供するか否かは判らない。もしこの検査定法が正しいとすれば呼吸抑制を筋肉分化に求めることは誤りであることになる。そこで飛翔筋ミトコンドリア形成と呼吸抑制の関係を調べた。192時間令蛹のホモジネートは800—1300×gで落ちる普通のミトコンドリアと300—800×gで落ちる「巨大」ミトコンドリア(飛翔筋ミトコンドリアの70—80%はこの分画に含まれる)を有している。24時間令で照射し192時間令で調整した「巨大」ミトコンドリアの窒素量から推定したタンパク量の線量—効果関係は24時間令照射蛹の羽化直前の呼吸抑制反応とよく一致した(表4)。従って飛翔筋の分化に伴なって「巨大」ミトコンドリアが形成されること、およびその形成が照射によつて障害されることが蛹

期後半の呼吸上昇抑制の主要素であると考えるのは理に合っている。

本研究は文部省科学研究費（特定研究，放射線影響）の援助を受けその一部は既に報告した⁶⁾。記して感謝の意を表す。

文 献

- 1) Henshaw, P.S. & A.B. Golomb, 1940, *Radiology*, 34, 721—730.
- 2) 粟冠正利, 1960, *Bulletin of Tokyo Medical and Dental University*, 7, 231—235 : 同人, 1965, *Tohoku J. exp. Med.* 86, 325—333 :

- 粟冠および堀内, 1960, *Bulletin of Tokyo Medical and Dental University*, 7, 577—582,
- 3) Huxley, H.E. & J. Hanson, 1957, *Biochimica et Biophysica Acta*, 23, 250—260.
- 4) 佐々木俊作, 1965, 日本放射線影響学会第7回研究発表会講演要旨集, 33.
- 5) Bodenstein, D., 1950, Demerec, M. 編, *Biology of Drosophila* (John Wiley & Sons, Inc) New York, 334—336.
- 6) 粟冠, 佐藤, 1965, 研究報告集録（昭和39年度版, 放射線影響編, 164 : 粟冠, 佐々木, 1966, 同（昭和40年度版）同, 232.