



Title	種々の環境下におけるメダカに及ぼすX線の影響について 2. 塩水および淡水中のメダカのX線感受性
Author(s)	菱田, 豊彦
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1959, 19(1), p. 95-100
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/17431
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

種々の環境下におけるメダカに及ぼす X 線の影響について

2. 塩水および淡水中のメダカの X 線感受性

京都府立医科大学放射線医学教室 (前主任 後藤五郎教授, 主任 金田弘教授)

京都府立医科大学生物学教室 (主任 仲尾善雄教授)

菱 田 豊 彦

(昭和34年 1月16日受付)

1. 緒 言

電離放射線による生物学的変化, たとえば致死が生ずるまでの過程はひじょうに複雑多岐であつて現在全く知られていないと云つてよい。最近放射線化学の進歩により primary action の物理・化学的本質についての知見は大きな飛躍を遂げ, 一つ一つの生化学的反應に対する放射線の作用機構についても多くの報告がなされた。こうして放射線作用機構に含まれる一連の生細胞内での反應中検出し得る生体の反應に近い部分ほど不明であるということが出来る。もちろんこの説明は細胞内の代謝経路が明らかになつて始めて解決されるのであるが, 生理状態の差がどのように放射線感受性に影響を及ぼすかを追求することにより, この連鎖を逆に辿ることは放射線作用機構の本質説明に大きな手がかりを与えて呉れるものと考えられる。

水分量と放射線感受性との関係についての研究は種々な材料について今までも追求されて来た。植物種子を材料とし含水量と感受性の関係を調べたり, 動物の卵や statoblast について含水量と感受性の変化についての報告もなされた^{1)~5)} また Failla⁶⁾ は腫瘍細胞で脱水と放射線感受性との関係をみている。しかし脊椎動物を材料としてのこの種の実験はひじょうに少く, わずかに France⁷⁾ が二十日鼠を材料とし, Patt が蛙を用いて研究しているのみである。

メダカは本来淡水魚であるが相当高い濃度の塩水中でも長く健康状態で棲息することが出来る。このことを利用して塩水に適応したメダカでは淡

水中のものに比較して X 線感受性がどのように変化するかを調べた。

2. 実験材料および方法

同一地區から採集して来た体長 2.5~ 3.5cm の成体メダカ *Oryzias latipes* を用いた。実験は次の二通りを行つた。

1) メダカを A, B 2 群に大別し, A 群は淡水 (水道水) 中, B 群は海水相当の塩水 (濃度, 3.5%; NaCl 3.32%, KCl 0.09%, CaCl₂ 0.09%) 中に飼育した。淡水のメダカを一度に高濃度の塩水に入れるとただちに斃死するので, 前記 3.5% の塩水に飼育するまでに, おのおの 1 週間ずつ 1%, 2%, 3% の三段階をへて順次濃度を高めて最後に 3.5% に適応させた。さらにその後 1 カ月間適応させたものを照射の材料とした。塩水飼育のものとは淡水飼育のもの各々をさらに 4 群に分ち, 各一群を雄 10 匹, 雌 10 匹の計 20 匹とした。これらのメダカ 8 群をそれぞれ, 5,000r, 10,000r, 20,000 r を照射した。塩水群, 淡水群とも非照射群を対照とした。

照射条件は 200KVp, 25mA, 1.0mm Al 濾過板距離, 16cm 1440r/分の X 線である。

照射方法: 内径 9 cm のシャーレに最小にして充分な水分を含んだ濾紙二枚の間にメダカ 20 匹を挿入した。そして上方から X 線照射を行つた。

照射後ただちにそれぞれもとの淡水および塩水中にもどした。非照射対照群に対しても同様に一定時間濾紙に挿入後もとの水中にもどした。

各線量について塩水中と淡水中のメダカの致死を求めて比較した。死亡したメダカはただちに水

より取り出して飼育水の腐敗を防いだ。

2) 1)と同様にメダカをA, B 2群に分ち, A群は淡水に, B群は1.58%塩水 (NaCl 1.5%, KCl 0.04%, CaCl₂ 0.04%)に1カ月間適応させた。1.58%に適応せしめるまでに1.0%に1週間, ついで1.58%に移行せしめた。各群は25匹, 照射線量は5,000 r, 10,000 rとし他は1)と同様に行つた。

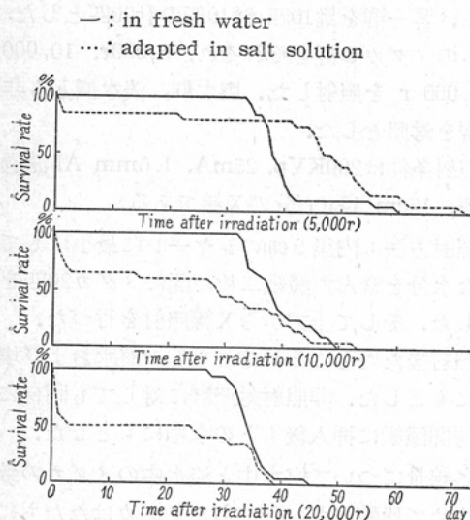
3. 実験結果

1) 3.5%塩水の場合

第1図に示す如く, 塩水中のものは5,000 r では照射第1日に15%, 10,000 r では照射第3日までに35%, 20,000 r では照射第3日までに50%の死亡をそれぞれ示し, それ以後は三者ともほとんど死亡せず, 5,000 rでは照射後40日頃から, 10,000 rでは27日から, 20,000 rでは24日からそれぞれ再び死亡し始め, そのまま生存率は0%に落ちる。生存日数は線量にはほぼ逆比例し, それぞれ71日, 53日, 39日であつた。その間非照射対照群には一匹の死亡も見られなかつた。

一方淡水中のものは, 照射されたものでも照射後30日頃までは全然死亡がみられず, 以後比較的

Fig. 1. Comparison of the survival curve after irradiation the fish kept in fresh water with adapted in salt solution (3.5%; NaCl 3.32% KCl 0.09%, CaCl₂ 0.09%) throughout the experiments.



短時日の間に全部死亡する。100%生存日数および0%生存日数はほぼ照射線量に逆比例している。死亡し始める日はそれぞれ5,000 rでは照射後33日, 10,000 rでは32日, 20,000 rでは27日であり, 全個体死亡までの日数はそれぞれ60日, 50日, 45日であつた。この場合も非照射対照群は一匹の死亡もみられなかつた。

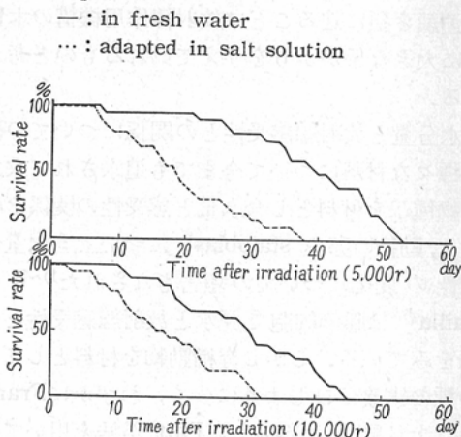
2) 1.58%塩水の場合

その結果は第2図に示す。

塩水中のものは5,000 rでは照射後5日間は死亡なく, 以後ほとんど毎日死亡する, 照射後38日で生存率は0%となる。10,000 rの場合は照射後2日間は死亡なく, 3日目から死亡し始めて全部死亡するまでの日数は32日であつた。

淡水中のものは5,000 rでは照射後7日から死亡が認められるが, 主として死亡し始める日数は20日頃からである。10,000 rでは11日から死亡し始める。全個体が死亡するまでの日数はそれぞれ52日, 45日であつた。これらの場合非照射対照群にも10%の死亡が認められた。

Fig. 2. Comparison of the survival curve after irradiation the fish kept in fresh water with adapted in salt solution (1.58%; NaCl 1.5%, KCl 0.04%, CaCl₂ 0.04%) throughout the experiments.



以上, 1), 2)どちらの場合も雄と雌とにおいて感受性の差は認められなかつた。

4. 考察

3.5%塩水中のメダカの生存曲線と淡水中のそ

れとを比較してみると、明らかな差異が認められる。すなわち 3.5%塩水の方では照射後早期に死亡するものと晩期に死亡するものによつて、二相性の曲線として示されるが、一方淡水中のものはこのような二相性の曲線を示すことなく単相性のものであつた。

1.58%塩水中のものは二相性の曲線ではなく以上と異なつた単相性の曲線を示す。

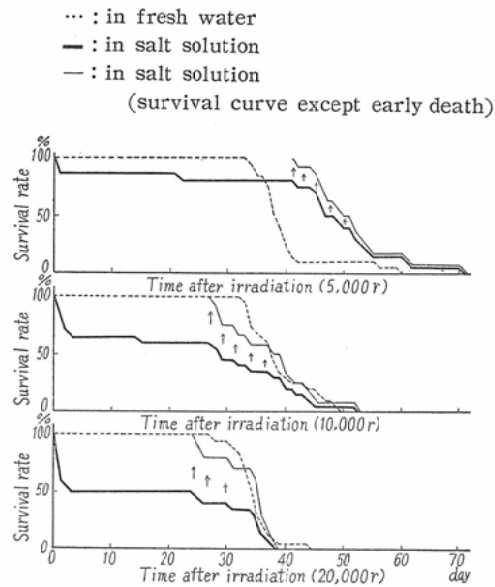
以上の点を考慮してみると、放射線による致死には数多くの原因が考えられるが、塩水に適応したメダカではそのあるものが促進されて現われて来るのに反して、淡水のものではそれらの原因が一定期間の後になつて現われて来るのではないかと考えられる。従つて死の原因には少なくとも二つ以上の機構があると考えられる。それが 3.5%塩水中では明らかに分離せしめられるが、淡水中あるいは1.58%塩水中では分離されない。すなわち淡水中ではメダカ生体に作用する放射線はいろいろな臓器に種々な影響をおよぼしそれが代謝の長い経路をへて個体の死となつてあらわれるが、塩水中に適応したメダカの代謝系ではこの反応が早く進むように促進されるかまたはある所で短絡している。しかもその照射の効果の初発 initiation から死に至る連鎖反応は一つではないということである。

次にメダカが塩水中に適応するためには体全体にわたつていろいろな生理・代謝の変化を来すであろう。一般に淡水魚が塩水中に入れられた場合、血液浸透圧は上昇し、体組織の含水量は減少して或る意味の脱水現象が行われることは確かであろう^{9),10),11)}。植物種子の実験では含水量の減少は activate される radical が少くなり、このことが感受性を低下せしめると考えられる。これとは反対に本実験では脱水されたと考えられるもの(すなわち塩水中のもの)で感受性が低下することはなかつた。これはメダカが塩水に入れられたことによつて単に脱水現象だけが生ずるのではなく、他のさらに複雑な変化があるためか、その本体は不明であるが塩水適応の代謝経路が放射線に対して弱いかのどちらかであろう。現に塩水中の方が

淡水中のものよりも血液水分量が大であると云われている¹²⁾。また組織内のイオンの変動は単に浸透圧の概念のみでは解釈出来ないようである。さらに塩水適応メダカの鰓には塩類細胞 chloride cell の出現がある¹³⁾。この細胞が如何なる作用を有し、放射線に対してどのような関係をもつかについては不明な点が多いが、積極的に個体の死に深い関係を持つとは考えられない。かくの如く塩水中では種々の変化が生ずるが、本研究のみでは塩水中のものの生存曲線が二相性になつた理由を直接究明することは困難である。

次に塩水および淡水のものの生存曲線を更に比較した。塩水中の早期に死亡したものを除外し晩期に死亡したのもののみを淡水のそれと比較すると、時期的な相違はあつても致死曲線(すなわち致死の経過)には明らかな差を見出すことは出来ない。(第3図参照)。従つて本実験で最も問題とされる点は、早期致死が塩水適応メダカで何故生ずるかということであろう。

Fig. 3. Comparison of the survival curve of the fish in salt solution except the early death with that of in fresh water.



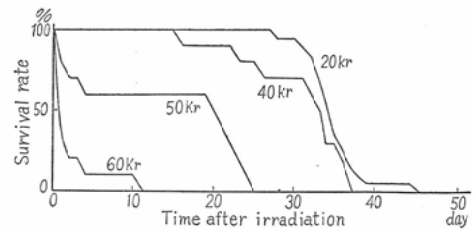
ここで先ず考えられることはメダカを生来棲むべき環境と異つた環境下におくこと自体がすでに

障害であり、その上更にX線による障害が加わり、二重の負荷として障害の加算されたために早期致死が生じたのではないかという疑問である。しかしメダカは塩田地方にも棲息し、この方が淡水のものに比して体長が大であるとも云われている¹⁴⁾¹⁵⁾。すなわち塩水中の方が一般状態がよいことを示唆していると考えられる。また我々の観察においてもその活動性その他は淡水飼育のものに比して特に差はなかった。またX線照射後の生存期間は両者ともほとんど差はなく、かえって塩水中の方が長い群もあつた。さらに塩水中の方が疾病が生ずる率が少いばかりではなく、感染の生じたとき、また衰弱したときなどは、稀薄な食塩水中に入れることによりそれが治癒または回復することが古くから知られている。このようにメダカにとって塩水は決してX線照射に二重負荷となるような悪条件とは考えられず、かえって好条件でさえあるので、この早期致死が二重の負荷によつて生じたものであるという説明は妥当とは考えられない。

次に早期致死について Austin 等の二十日鼠の観察によると¹⁶⁾、口腔死、腸管死、骨髄死の三つが死の原因としてあげられている。メダカにおいてもあるいは致死の原因をこのように分けることが出来るかも知れないが、現在までの所これを十分に立証するデータは見出せなかつた。

ところが淡水飼育メダカのX線照射の多くの実験を観察していると、大線量の照射をする程早期におこる致死を認め、その後ある時日の潜伏期をへて全斃死に到るような、あたかも塩水適応メダカにみられるような二相性の生存曲線を得る(第4図参照)。これが線量の減少とともに認め難くなり次第に早期致死はなくなり、或る時日の潜伏期をへてから短時日の間に全部死亡するような曲線になる傾向を示す。従つて塩水の場合の早期におこる致死も、淡水飼育のものの大線量照射後におこる早期の致死と似た機構によるものかとも考えられる。しかもここでみられた早期の致死が3日以内で生じ、またメダカ自身の運動性の異常(大線量照射後は自己の方向性を失つて容器の端を泳

Fig. 4. Survivals of the fish in fresh water after X-ray irradiation with different doses.



ぐ、それらがそのまま死亡するものと回復するものに分かれる。これと同じことが塩水適応メダカに照射した場合にみられる。)からみて、および相当大線量であることから考えて、Andrews and Brase¹⁷⁾ 及び Langham et al¹⁸⁾ の観察と同様に照射によつて生ずる biochemical な変化がただちに神経・ホルモン系統に作用をおよぼし死が生ずるのではないかと考えられる。魚類の脊髄を切断すると浸透圧調節作用が円滑に行われないと云われており、またメダカは食塩水中で鱗の黒色細胞の増加がみられ、これは神経あるいはホルモンに関係があると云われている⁹⁾。

これらのことからX線照射によつて神経・ホルモン系統に作用をおよぼし、塩水適応に不調和を生ぜしめ、遂には死に致らしめるものかとも考えられる。

ここで照射後塩水適応に不調和を生じ早期致死がおこるとするならば、照射前は淡水中におき照射後塩水に移した場合に、同じような早期致死がおこると考えられる。これに対する著者の別の実験¹⁹⁾によると、照射前は淡水で飼育し、照射後一方は淡水に他方は塩水に移すと、照射後塩水に入れられたものの方が、そのままの淡水にもどされたものより生存期間は短縮している。この場合移された塩水の濃度は1.38%であり3.5%の半分以下のものである。しかも本実験の如く3.5%塩水に適応されたメダカを照射したのではなく淡水飼育メダカを照射したものであるので、この実験と本質的な比較をすることは困難であるが、ある暗示をもたらすであろう。

これらからみてX線照射によつて神経・ホルモン系統に影響をおよぼし、それが塩水中のメダカ

では直接、早期死の反応としてあらわれると考えられる。しかしこれのみですべてを解決することは困難であろう。なお多くの複雑な問題が潜んでいるように思われる。これらの具体的な解明については今後の研究をまつ外はない。

5. 要 約

塩水飼育メダカの放射線感受性を検討した。

1) 3.5%塩水に1カ月適応させたメダカと淡水飼育メダカの放射線による致死を比較した。

塩水適応メダカは照射後一部は早期(3日以内)に死亡し、残りは晩期(1~2カ月後)に死亡する。

すなわち塩水飼育メダカの照射後の生残曲線は二相性となる。

一方淡水飼育メダカは、照射後1カ月ほどへてから短時日の間に全部死亡する。

すなわち淡水飼育メダカの生存曲線は二相性ではない。

塩水適応メダカの早期致死の割合は線量に比例して大となる。(5,000 ~ 20,000 r).

生存期間は塩水中のものも淡水中のものも線量にほぼ逆比例する(5,000 ~ 20,000 r).

生存日数は塩水中のものと、淡水中のものとはとくに差は認められない。

2) 塩水の濃度が低下した場合(濃度 1.58%)には、3.5%塩水中メダカに見られる二相性の生存曲線は認められない。

以上からX線照射による致死にはおそらく少くとも二つ以上の機構があると思われる。

淡水中ではこれらが大体同じ時日をへて死という反応としてあらわれて来るが、塩水中ではその

一つが促進されるように考えられる。それについて種々考察した。

現在具体的にそれが何であるかについては明らかでない。

擧筆するにあたり御指導、御校閲下さった後藤五郎教授、金田弘教授並びに仲尾善雄分校生物学教授に深謝致します。

文 献

- 1) Petry, E.: *Biochem. Z.*, 1922, 128, 326-353.
- 2) Henshaw, P.S. and Francis, D.S.: *J. cell. comp. Physiol.*, 1953, 7, 173.
- 3) Patt, H.M.: *Physiol. Rev.*, 1953, 33, 35.
- 4) Stapleton, G. E., Hollaender, A. and Martin, F.L.: *J. cell. comp. Physiol.*, 1952, 39 (Suppl. 1), 87.
- 5) 岩崎民子: 原子力シンポジウム第2集.
- 6) Fajilla, G.: *Am. J. Roentgenol. Radium. Therap.*, 1940, 44, 649-664.
- 7) France, O.: *USAEC Report CH-3889*, 1946.
- 8) Patt and Tyree.: 1949, unpublished observation.
- 9) 川本信之: 魚類生理学, 1956, 石崎書店, 東京.
- 10) 末広恭雄: 魚類学, 1955, 岩波書店, 東京.
- 11) Guzman Barron, E.S.: 'Modern Trends in Physiology and Biochemistry.' 1952, Academic Press. London.
- 12) 黒田嘉一郎, 李基寧: 植物及び動物, 昭16, 9, 6, 1-13.
- 13) 立石新吉, 山下秀夫: 動雑, 1956, 65(5), 194-197.
- 14) 柳島静江, 森主一: 動雑, 1957, 66(6), 351-358.
- 15) 柳島静江, 森主一: 動雑, 1957, 66(6), 395-366.
- 16) Austin, M.K., Miller, M. and Qusatiler, H.: *Rad. Res.*, 1956, 5, 303-307.
- 17) Braze, K.C. and Andreus, H.L.: 'Peacefull uses of Atomic Energy, (Proceedings of the International Conference in Geneva, August 1955) Vol. 11, Biological Effect of Radiation' (United Nations) 115-117.
- 18) Langham, W., Woodward, K. T., Rothermel, S.M., Harris, P.S., Lushbaugh, C.C., and Storer, J.B.: *Rad. Res.*, 5, 404-432.
- 19) 菱田豊彦: 印刷中.

Effect of X-ray Irradiation on *Oryzias latipes* under Different Conditions

2. Radio-sensitivity of the fish in salt solution or in fresh water

By

Toyohiko Hishida

Department of Radiology, Kyoto Prefectural Medical Collage

(Director: Prof. G. Goto, Prof. H. Kaneda)

Department of Biology, Kyoto Prefectural Medical Collage

(Director: Prof. Y. Nakao)

The radio-sensitivity of the fish *Oryzias latipes* domesticated to live in salt solution (concentration 3.5%; NaCl 3.32%, KCl 0.09%, CaCl₂ 0.09%) as long as one month was compared with that of fresh water (i.e. in natural condition).

Each group contained twenty fish which were irradiated with varying x-ray doses of 5,000, 10,000 and 20,000 r (physical condition; 200 KVp, 25 mA, 1.0 mm Al filter, 16 cm distance, 1440 r/min), and the mortality was determined.

Some of the fish in salt solution died in the early phase after irradiation (within three days) and the remainder died later (in one to two months), that is, the survival curve was diphasic. The early deaths in these groups were proportional to the dosage. No difference was observed in survival time between the fish in fresh water and those in salt solution.

2. When the salt concentration of the solution was decreased to 1.58% (NaCl 1.5%, KCl 0.04%, CaCl₂ 0.04%) and the fish were irradiated after one month of domestication in such liquid, the survival curve was no longer diphasic as mentioned above, but monophasic.

From these experiments it can be suggested that there are at least two mechanisms concerned with the radiation death of fish. While in fresh water, these two mechanisms may appear later at the about same time as the reaction of death of the fish, whereas in salt solution one of them may be accelerated. But what these deaths concretely mean is not yet clear. Some consideration is given to these mechanisms.