

Title	マウスにおけるX線誘導奇形の発現機序に関する研究
Author(s)	玉置, 尚徳
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1969, 29(3), p. 261-283
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19690
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

特別掲載

マウスにおける X 線誘導奇形の発現機序に関する研究

大阪大学歯学部口腔外科学第2教室 (主任: 川勝賢作教授)

大阪大学歯学部附属病院中央放射線室 (室長: 淵端孟講師)

玉 置 尚 徳

(昭和44年 4月30日 受付)

An Experimental Study on Development of Radiation Induced Malformation in Mice

by

Naonori Tamaki

2nd Department of Oral Surgery, Osaka University Dental School

(Director: Prof. K. Kawakatsu)

Department of Oral Radiology, Osaka University Dental School

(Chief: Lecturer H. Fuchihata)

An experimental study was made on the mechanism developing radiation induced malformation, with special reference to the relationship between fetal malformation and radiation damage to the placenta. The change was examined macroscopically and microscopically using ddO strain mice.

The study was performed in following ways:

1) The depth dose at uterus was measured with small ionization chamber (PTW Simplex Universal Dosimeter), and the absorbed dose (rads) was calculated by multiplying conversion factor.

2) Of the duplex uterus of the mouse, the embryos of one side was used for inducing malformations, and the other side was to be saved as the control; the same environment and the same pregnant stage were considered to be essential for this study. In order to irradiate the one side of the horns, a 1.5 cm thick lead plate having a window covering it, was used to shield the other part of the body. The scattered dose of the uterus of control side was measured about 2% of the dose of the irradiated one. Any histological changes could not be found in the control side.

3) To find the critical period developing cleft palate, embryos of the $7\frac{1}{2}$ th to $13\frac{1}{2}$ th day of gestation were irradiated with 190 kVp X-rays, which received two different doses of 193 and 242 rads. The cleft palate developed on the embryos of the $7\frac{1}{2}$ th to $12\frac{1}{2}$ th day of gestation and most frequently on those of the $11\frac{1}{2}$ th day. The embryos of the $11\frac{1}{2}$ th day of gestation received a dose of ranging 48 to 339 rads, and every cases which received more than 242rads developed cleft palate.

4) The fetuses and placentas irradiated with a dose of 242 rads on the $11\frac{1}{2}$ th day of gestation were weighed daily and observed histologically. The growth was retarded of the placenta as well as of the fetuses. In the histological observation, however, any change could not be seen in the tissue of placenta, in spite that the fetal tissue was destroyed remarkably. The fetal weight began to decrease immediately after irradiation, but on the other hand the placental weight began to decrease 24 hours

later. The rate of retardation thereafter was approximately equal in both.

From these findings the retardation of placental growth was considered as a secondary change due to fetal destruction.

5) Histological examination was made to evaluate the radiosensitivity of the fetal and placental tissues according to the stage forming germs. As materials, early embryos were used having received a dose of 193 and 242 rads at different stages ranging from the 6 $\frac{1}{2}$ th to 10 $\frac{1}{2}$ th day of gestation.

In the fetus forming germs irradiated at the stage of pre mesoderm formation, embryonic ectoderm was damaged slightly; on the other hand those irradiated at any stage of post mesoderm formation revealed remarkable destruction in most embryonic ectodermal and mesodermal cells. In the irradiated placenta forming germs, however, no changes were found in any germ layer at any stage of differentiation.

These findings could prove that the placenta has much less sensitivity to radiation than the fetus, irrespective of the stage of the embryo.

From this experimental study, it could be concluded that the radiation induced malformations are principally due to the direct effect to the fetus not to the placenta.

目 次

I. 緒言

II. 各種実験とそれらの結果

- 1) 実験材料ならびに方法
- 2) X線照射時のマウス胎仔の吸収線量について
- 3) 一側子宮角部照射法の検討について
 - a) 遮蔽側子宮角の吸収線量
 - b) 遮蔽側胎仔のX線照射による影響
- 4) 口蓋裂誘導の臨界期と線量の検討について
 - a) 口蓋裂成立の臨界期
 - b) 線量別照射による影響
- 5) 胎盤におけるX線照射の影響について
- 6) 胎仔ならびに胎盤形態形成の各時期におけるX線感受性について

III. 総括ならびに考案

IV. 結論

V. 文献

I. 緒 言

X線が催奇形因子として、一定の時期に比較的短期間働かせることができるので、X線による実験奇形学の研究は、古くから種々な動物について行なわれ、照射時期、照射線量と奇形の発現頻度、型などとの関係はかなり明らかにされてきた¹⁰⁾¹³⁾²⁶⁾³⁸⁾⁴⁶⁾⁴⁷⁾。ところが奇形成立機構についての解明はおろか、研究方法においてすら未だ不十分な点が指摘される現状である。

その1つは線量の取扱いである。放射線の生体

に対する影響は、そこに吸収されたエネルギー量、すなわち吸収線量に依存するにもかかわらず、照射線量によつて表わされているため、それらの効果についての比較が不確定になる場合がある。

もう1つは対照の設定である。実験奇形の真の目的は、形態異常の頻度や型の観察だけではなく、催奇形因子が働く時期から、組織器官が形態異常に導かれていく過程を連続的に観察して、正常発生からの歪を追求することであるから、条件づけられた胚(胎仔)と、同一発育段階にある対照との正確な比較が必要であることは当然である。ところが従来の実験方法は、ほとんど全身照射を行ない対照を非照射の母獣に求めている。しかし異腹間の胎仔の発育差が大きいために、同一発育段階で比較することはきわめて困難である。本実験では、これらの問題点を検討した上で、奇形発現機序解明の基礎的研究を行なった。

奇形の発生は、遺伝因子と環境因子が関与するといわれている²⁹⁾。そして催奇形因子が胎生環境を侵襲する場合、胎仔に対する直接作用、間接作用、あるいはその両者が一緒に作用する場合とが考えられる。しかし従来放射線による奇形の誘導に関する研究では、主として胎仔のみの観察が行なわれてきており、胎仔の発育に重要な胎膜や胎盤の変化についての報告はきわめて少ない。すな

わち Russell and Russell³⁸⁾ や Brent ら⁴²⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾ は、母体ならびに胎盤などによる間接的な影響を否定しており、他方 Knopp und Trautmann²²⁾ や沢崎⁴¹⁾ は、放射線照射後の胎盤に組織学的な変化を認め、それが奇形の発生に何らかの影響をおよぼすものと考えており、それらの影響については十分把握されるには至っていない。

そこで著者は、実験動物としてマウスを用い、X線を催奇形因子として、研究方法を検討した上で、奇形を誘導する線量での、特に胎盤の変化について胎仔の変化と対比しながら詳細に観察した。さらに胎仔ならびに胎盤組織のX線感受性について、組織発生学的に追求して、X線による奇形発生機序の一端を解明しようと試みた。

II. 各種実験とそれらの結果

1) 実験材料ならびに方法

本研究の実験には、実験動物としてすべて体重25~30gの ddo 系（自然発生による奇形の出現はない）マウスを使用した。飼育は恒温恒湿の動物舎で、オリエンタル固型飼料（NMF）および水道水を用いて行なつた。交配は夕6時に雌4匹に対し雄1匹を配し、翌朝9時に産栓を検し、産栓形成の認められたものを受胎マウスとした。胎令の起算は午前2時からとした⁴³⁾。

X線照射は、本学医学部放射線学教室の深部治療装置（東芝製 KXC-18-5）を使用し、ネンブター麻酔下で行なつた。照射条件は、190kVp, 25mA, Filter 0.5Cu+ 0.5Al, FSD 51.5cm, HVL 0.98mmCu, 照射野 5 × 5 cm, 線量率39R/m. であつた。

線量測定には、PTW, Simplex Universal Dosimeter No. 10958 (Normal Kammer No. 18376) を使用した。

組織学的検索は、いずれの場合もカルノア氏液で固定し、通法によりパラフィン包埋を行ない、5μの連続切片として H-E 重染色を施して顕微鏡下で観察した。

骨格系の異常は Arizalin Red S 染色による透明標本を作製して、実体顕微鏡で観察した。

2) X線照射時のマウス胎仔の吸収線量について

従来催奇形因子としてX線を照射する場合、動物の種を問わず、線量は照射線量である空中線量で表わされている。ところが放射線による生体（組織、器官）の障害度は、照射線量ではなく実際そこに吸収されたエネルギー量、すなわち吸収線量に依存する。そしてこの吸収線量は、X線照射条件が一定であつても、該当器官の体内空間位置により変化する。そこで本研究での線量表現を正確にするために、以下のようにして子宮部の吸収線量を測定し算出した。

実験：マウスをネンブター麻酔の下に、木板に固定し、図1に示すように、子宮部に小型電離槽を挿入してX線を照射し深部線量を実測した。そして rad への変換係数を乗じて吸収線量を求めた。

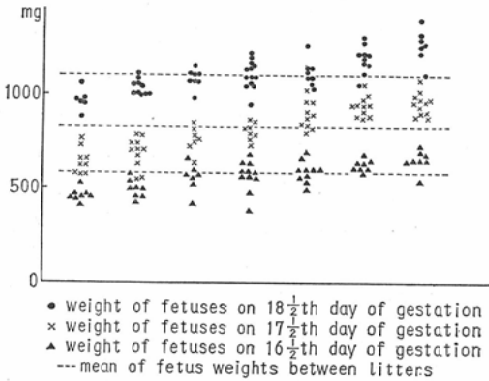
結果：測定結果ならびに吸収線量は表1に示す。すなわち空中線量 268R を照射した場合、子宮部の深部線量は 257R であつた。rad への変換係数0.94を用いて計算し、242 rads の吸収線量が得られた。

小括：以上の実験結果より、空中線量と吸収線量の量的関係が明瞭となり、つまり催奇形因子の量的表現が正確になつた結果、いかなる実験動物、あるいはいかなる種類の放射線を用いる場合も、胎仔への影響すなわち線量効果関係が相互に比較できるようになつた。

3) 一側子宮角部照射法の検討について

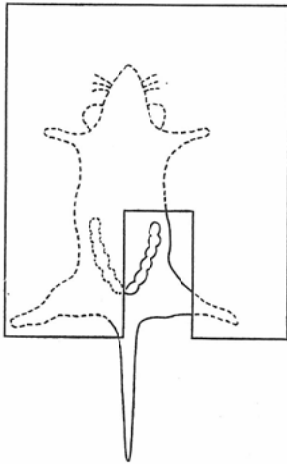
胚ならびに胎仔が、形態形成の異常に導かれる推移を正確に把握するためには、条件づけられた胚と同一の環境で発育し、しかも同一発育段階にある胚を対照として比較する必要がある。ところが同一胎令のものとして実験に供せられている胚でも、図2に示すように、異腹間では胎仔の発育差はきわめて大きい。胎生期の発育時では、組織器官の形態形成はきわめて速い時間で進行するものであり、大きな発育の偏差を示す異腹の胎仔を対照として用いることは非常に危険である。もちろん同腹内の胎仔間にも発育差はあるが、もしも同腹内の胎仔を対照として用いる方法があれば、サンプリングの誤差を最少に抑えることができ、より正確な実験を行なうことができる。

Fig. 2 Comparison of distribution of fetus weights within and between litter on various days of gestation.



さいわいにも、嚙歯類であるマウスの子宮は双角であるので、図3に示すように、一側子宮角に該当する腹部以外を鉛板で遮蔽して部分照射をする方法を考案し、遮蔽側に位置する胎仔を対照として用いることができるか否かの検討を行なった。すなわち遮蔽側子宮部の吸収線量の測定と、該当子宮内胎仔の影響について観察した。

Fig. 3 Schema showing the relation between lead plate and duplex uterus of mouse.



a) 遮蔽側子宮角の吸収線量

実験：図4、5に示すように、ネンブタール麻酔下で妊娠マウスを仰臥の状態にて木板製の照射台上に固定し、一側子宮角部を除き、約1.5cmの厚さの鉛製のプロテクターで全身を覆い、前述の条

件で空中線量として268RのX線を照射した。鉛板で遮蔽された側の子宮部（胎仔）の吸収線量（rad）は、前述の方法で測定算出した。

結果：実測された照射側子宮角部ならびに遮蔽側子宮角部の吸収線量は、表1に示す。すなわち照射側の吸収線量は242 radsであつたが、遮蔽側は5 radsを示した。つまり照射側の約2%の散乱線による吸収線量が測定された。

Table 1. Depth dose and absorbed dose at irradiated and shielded uterus of mouse.

	irradiated side		shielded side	
	depth dose (R)	absorbed dose (rad)	depth dose (R)	absorbed dose (rad)
1	258.34	242.8	5.23	4.9
2	257.94	242.5	5.30	5.0
3	253.80	238.6	5.33	5.0
4	257.53	242.1	5.20	4.9
5	259.04	243.5	5.16	4.9
6	256.84	241.4	5.14	4.8
mean	257.25	241.8	5.22	4.9

air dose : 268R, conversion factor : 0.94

b) 遮蔽側胎仔のX線照射による影響

実験：妊娠11½日のマウスに、照射側子宮角の吸収線量が48—339 radsになるような各種線量のX線を照射し、妊娠18½日目に開腹して、遮蔽側子宮角内の胎仔を摘出し、大きさ、重量、外奇形ならびに組織学的変化について検討した。組織学的な観察対象は、この時期に最も感受性が高いといわれている中枢神経¹⁴⁾³⁹⁾を選び、照射後6時間、12時間、ならびに7日後（胎令18½）の様相を検鏡した。対照には非照射マウスの胎仔を用いた。

結果：遮蔽側胎仔の大きさと、非照射マウスの胎仔のそれとの比較は図6に示す。すなわち290 radsに至るまでは同様であるが、339 radsを越えると若干の減少が認められた。遮蔽側胎仔重量は、表2と図8に示す。そのほとんどは非照射マウスの胎仔重量分布内に入っており、290 rads以上になると若干の減少傾向が認められた。

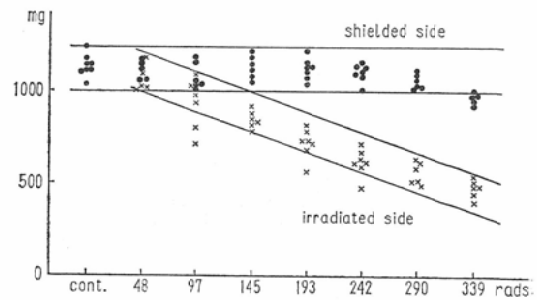
遮蔽側胎仔の外奇形の出現は、表3に示すように皆無であつた。

Table 2. Weights of shielded fetuses and irradiated fetuses with various doses.

cont.	48 rads		97 rads		145 rads		193 rads		242 rads		290 rads		339 rads	
	shield. side	irrad. side	shield. side	irrad. side	shield. side	irrad. side	shield. side	irrad. side	shield. side	irrad. side	shield. side	irrad. side	shield. side	irrad. side
1144 (68)	1142 (127)	1187 (74)	1038 (34)	940 (41)	1153 (65)	912 (80)	1038 (130)	730 (60)	1094 (34)	716 (40)	1090 (48)	600 (51)	965 (107)	500 (40)
1115 (64)	1164 (69)	1002 (137)	1188 (41)	1085 (29)	1120 (81)	887 (55)	1130 (70)	568 (58)	1131 (57)	668 (67)	1030 (51)	520 (15)	980 (127)	410 (51)
1158 (66)	1073 (50)	1012 (66)	1002 (60)	807 (32)	1080 (99)	828 (83)	1220 (15)	790 (23)	1150 (28)	644 (29)	1071 (24)	510 (19)	1000 (40)	520 (74)
1115 (67)	1074 (50)	1011 (68)	1064 (37)	718 (35)	1210 (78)	831 (40)	1150 (63)	690 (74)	1008 (59)	485 (69)	1028 (65)	520 (13)	990 (54)	557 (106)
1172 (92)	1120 (122)	1100 (62)	1165 (41)	987 (73)	1170 (65)	860 (43)	1073 (151)	716 (48)	1121 (25)	600 (41)	1256 (32)	690 (90)	810 (110)	500 (27)
1044 (106)			1174 (25)	958 (2)	1048 (81)	794 (75)	1130 (40)	740 (50)	1142 (73)	609 (124)	1020 (16)	644 (59)	939 (103)	446 (26)
1109 (70)							1111 (50)	823 (69)	1105 (36)	622 (119)	1108 (8)	636 (21)		

(S.D.)

Fig. 8 Change of weights of shielded fetuses and irradiated fetuses with various doses.



遮蔽側胎子の脳室の様相は図9に示す。339 rads 照射(遮蔽側線量7 rads)6時間後においても、細胞破壊、組織配列異常などの形態学的な変化は認められなかった。

小括：以上の実験結果より、マウス一側子宮角部以外を遮蔽して照射を行なった場合、遮蔽側に該当する胎子は、対照として取扱えることが判明した。すなわち遮蔽側子宮部は、照射側子宮部吸収線量の約2%の線量を被曝しているが、この被曝による胎子に対する影響を、各種線量を照射して検討した結果、胎子の発育に対しては、290 radsまでは影響は認められず、さらに外奇形ならびに組織学的変化については、比較的高線量の339 rads照射時においても、なお異常は認められなかった。このことから、照射された胚と同一の環境に発育し、比較的同一時期の胚を対照とすることが可能になり、より正確な実験を行なうことができるようになった。

4) 口蓋裂誘導の臨界期と線量の検討について
放射線の胎子に対する影響は、照射時期(胎子の発育段階)や線量により変化するものである。したがって放射線による奇形誘導実験においては、まず奇形を誘導し得る時期(臨界期)と、それに要する線量を知る必要がある。ついで奇形成立の機構を解明するためには、100%の奇形誘導が可能であることが基本的要因となる。それによつて全検材が、奇形に導かれる所見として扱うことが可能となるからである。そこで主として口蓋裂を対象として、胎子の各発育時期に種々な線量を照射して、口蓋裂成立の臨界期と、口蓋裂を

Table 3. Frequency of incidence of abnormalities in shielded fetuses and irradiated fetuses with various doses.

	dose (rad)		97	145	193	242	290	339
	shielded side	irradiated side						
cleft palate	shielded side	irradiated side	0	0	0	0	0	0
	shielded side	irradiated side	0	0	83.3	100	100	100
abnormality of fore limbs	shielded side	irradiated side	0	0	0	0	0	0
	shielded side	irradiated side	0	13.3	60.0	80.0	100	100
abnormality of hind limbs	shielded side	irradiated side	0	0	0	0	0	0
	shielded side	irradiated side	0	3.3	36.6	52.0	100	100

Table 4. Frequency of incidence of cleft palate and mortality with 193 rads and 242 rads irradiation on various days of gestation.

	7 1/2 day		8 1/2		9 1/2		10 1/2		11 1/2		12 1/2		13 1/2	
	cont.	irr.	cont.	irr.	cont.	irr.	cont.	irr.	cont.	irr.	cont.	irr.	cont.	irr.
193 rads	survival	40	18	41	25	48	34	32	29	46	36	26	27	—
	cleft palate	0	6 (33.3)	0	6 (24.0)	0	3 (8.8)	0	8 (27.6)	0	30 (83.3)	1	0	—
	dead	5 (11.1)	24 (57.1)	2 (4.8)	15 (37.5)	1 (2.0)	9 (20.9)	2 (5.9)	9 (23.7)	0	9 (20.0)	0 (3.7)	2 (6.9)	—
242 rads	survival	32	3	15	4	33	16	35	35	58	75	53	50	26
	cleft palate	0	0	0	2 (50.0)	0	6 (37.5)	0	17 (48.6)	0	75 (100)	0	11 (22.0)	0
	dead	6 (15.8)	34 (91.4)	1 (6.3)	26 (86.7)	7 (17.5)	25 (61.0)	5 (12.5)	38 (52.1)	2 (3.3)	7 (8.5)	7 (11.7)	5 (9.1)	2 (7.1)

(%)

100%誘導しうる線量を求めた。

a) 口蓋裂成立の臨界期

実験：胎令7 $\frac{1}{2}$ 日より13 $\frac{1}{2}$ 日に至る各妊娠日のマウスに193 radsと242 radsのX線を一例子宮角部に照射し、胎令18 $\frac{1}{2}$ 日に開腹して胎仔を採取し、各照射時期に伴う死亡(吸収)率ならびに口蓋裂の出現率を検討した。

結果：表4は、死亡率と口蓋裂出現率を示す。死亡率は7 $\frac{1}{2}$ 日に照射の場合が最も高く、その後経的に低下した。口蓋裂出現率は、193 rads照射の場合、7 $\frac{1}{2}$ 日照射で33.3%、ついで8 $\frac{1}{2}$ 日に24%を示すが、9 $\frac{1}{2}$ 日に8.8%と低下した。さらに10 $\frac{1}{2}$ 日に至り27.6%、11 $\frac{1}{2}$ 日で83.3%となつたが、12 $\frac{1}{2}$ 日では出現しなかつた。242 radsの場合、7 $\frac{1}{2}$ 日にはそのほとんどが吸収されており、口蓋裂の出現は認められなかつた。8 $\frac{1}{2}$ 日より9 $\frac{1}{2}$ 、10 $\frac{1}{2}$ 日と、生存胎仔の約半数を占める口蓋裂の出現が認められるが、11 $\frac{1}{2}$ 日に至り、100%の口蓋裂の出現が得られた。ついで12 $\frac{1}{2}$ 日には22%の出現を見たが、13 $\frac{1}{2}$ 日に至ると口蓋裂は認められなかつた。

b) 線量別照射による影響

実験：線量の変化による障害様相を調べるために、前実験で高頻度に口蓋裂の出現した胎令11 $\frac{1}{2}$ 日に、48—339 radsのX線を照射した。照射後胎令18 $\frac{1}{2}$ 日に開腹して胎仔を摘出し、各線量における胎仔の大きさや重量の変化、ならびに外奇形の出現頻度や組織学的な変化を観察した。

結果：X線照射胎仔の肉眼的な大きさは、図7に示すように、線量の増加に伴って小さくなつた。胎仔重量は、各腹の平均値の分布として表2、図8に示す。すなわち線量の増加に伴って重量が減少した。つぎにこの時期に誘導された奇形は、口蓋裂の他に指趾異常、短尾、外脳症等が出現した。特に口蓋裂と指趾異常についての、線量と発生頻度との関係は、表3に示すようである。すなわち口蓋裂は、145 radsまでは出現しなかつたが、193 radsでは83.3%を示し、242 radsに至り100%の出現率を示した。一方指趾異常は97 radsまでは出現しなかつたが、145 radsでは指異常が13.3%、趾異常が3.3%であつた。ついで線量の

増加に伴い出現率は高まり、193 radsではそれぞれ60%および36.6%、242 radsではそれぞれ80%および52%、290 radsに至り両者とも100%に達した。つぎに出現した奇形の形態的な異常の程度と線量との関係を見ると、口蓋裂では線量の増加に伴ってその破裂度が強くなつた。図11、14は193 radsにより、図12、15は242 radsで出現した口蓋裂の肉眼的な所見と、それらの骨透明標本である。後者の方が前者よりも口蓋裂の間隙が広く、口蓋骨の口蓋突起の形成不全も著明であつた。一方指趾異常では、線量の変化によつて、図16、17、18に示すような欠指趾、多趾、血腫指趾などが出現した。すなわち欠指趾は、線量の増加に伴ってその欠損指が増加するとともに、高線量では血腫などの強度な障害も現われた。一方多趾は、高線量になるとかえって減少する傾向があつた。

さらに組織学的観察の結果、放射線による組織の一次障害はすでに修復しているが、図20に示すように、内奇形として脳室壁にロセッテの形成などが、線量の増加とともに著明に認められた。

小括：本実験の結果より、X線による口蓋裂の臨界期は胎令7 $\frac{1}{2}$ 日から12 $\frac{1}{2}$ 日にあり、胎令11 $\frac{1}{2}$ 日に最も高い発現率を示し、死亡率は7 $\frac{1}{2}$ 日が最も高く、胎令とともに順次減少して、胎令11 $\frac{1}{2}$ 日以後はきわめて低いことがわかつた。

また胎令11 $\frac{1}{2}$ 日において、口蓋裂の他に外奇形として指趾異常が高率に出現した。口蓋裂は193 radsより出現して242 radsで100%に達し、指趾異常はそれぞれ145 radsから出現し、290 radsで100%に達した。

さらに胎仔の発育障害ならびに奇形の外的内的異常度は、おおむね線量増加に伴って、強度になる傾向のあることが確認された。

5) 胎盤におけるX線照射の影響について

胎令11 $\frac{1}{2}$ 日のマウスにX線を照射すると、種々な奇形が高率に誘導されることが前実験でも明らかにされたが、奇形の成立機構については未だ明らかにされていない。

胎盤は胎仔の発育にとつてきわめて重要な器官であり、この時期では未だ形成途上にある点よ

Table 5. Development of fetuses and placentas after irradiation with 242 rads on 11 1/2 th day of gestation.

		11 1/2 day	12 1/2	13 1/2	14 1/2	15 1/2	16 1/2	17 1/2	18 1/2
fetus	cont.	30.9 (8.8)	65.9 (13.0)	130.1 (16.5)	206.8 (29.2)	360.7 (51.2)	553.7 (71.6)	815.3 (102.3)	1109.2 (102.6)
	irr.	—	54.2 (11.8)	97.2 (14.2)	143.4 (27.8)	242.7 (48.5)	335.5 (61.3)	523.7 (75.7)	665.5 (66.5)
placenta	cont.	29.2 (4.4)	41.6 (7.2)	63.2 (10.6)	69.4 (8.7)	82.8 (11.2)	80.2 (9.5)	83.0 (6.7)	72.2 (16.2)
	irr.	—	42.8 (6.6)	49.9 (7.1)	50.5 (7.7)	55.8 (9.8)	53.4 (2.8)	54.0 (7.6)	47.3 (10.3)

(S.D.)

Table 6. Growth retardation of fetuses and placentas on various days of gestation after 242 rads irradiation on 11 1/2 th day.

	12 1/2 day	13 1/2	14 1/2	15 1/2	16 1/2	17 1/2	18 1/2
fetus	17.8	25.3	30.7	32.8	39.4	35.8	40.0
placenta	0	21.0	27.2	32.6	33.4	34.9	34.5

$$\text{retardation (\%)} = \frac{\text{mean wt. of cont.} - \text{mean wt. of irradiated}}{\text{mean wt. of cont.}}$$

り、胎盤に対するX線の影響がもしあれば、胎仔発育に強く影響して、その発育異常を惹起することは当然予測される。したがってX線照射による胎盤の変化を知ることは、奇形発現機序解明の一助として重要である。

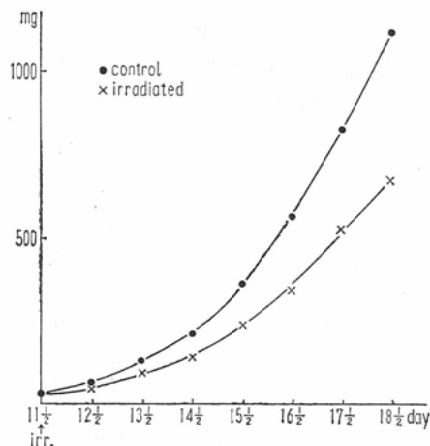
実験：胎盤におけるX線照射の影響を調べ、奇形発生との関係を知るために、前実験で口蓋裂を100%誘導することができた胎令11 1/2日に、242 radsのX線を照射した。照射1日後（胎令12 1/2日）より胎令18 1/2日まで経日的に屠殺し、生存胎仔ならびにその胎盤を採取し、それぞれの重量をまず測定した。ついで照射1, 3, 6, 12, 24時間後、以下経日的に組織学的検索を行なった。なお対照にはすべて同腹内の遮蔽側胎仔を用いたことはいうまでもない。

結果：

a) 胎仔ならびに胎盤重量の変化

胎仔重量の変化は表5、図21に示す。対照群の胎仔は、胎令13 1/2日までは徐々に増加するが、以後急速な増加を示して胎令18 1/2日には平均1,109mgに達した。一方照射群の胎仔は、照射24時間後（胎令12 1/2日）に至る間増量は停止した。この胎

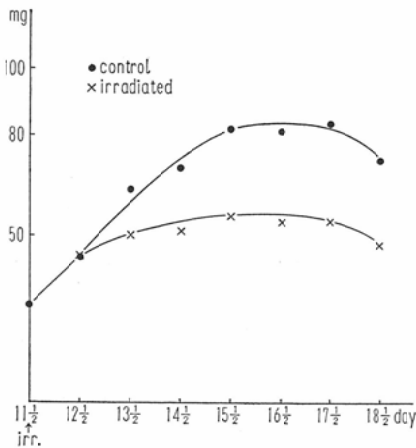
Fig. 21 Growth of control and irradiated fetuses exposed on 11 1/2 th day of gestation.



仔の発育遅延（障害）を対照に対する減少率で表わすと、表6のようになる。すなわち経日的に減少率は増加し、胎令18 1/2日では40%に達した。

一方胎盤重量の変化は表5、図22に示す。すなわち対照群では、胎令15 1/2日まで急速に増加して平均値が83mgに達し、その後17 1/2日まではほとんど変化がなく、18 1/2日以後は減少する傾向があった。一方照射群での重量は、胎仔重量増加が停止

Fig. 22 Growth of control and irradiated placentas exposed on 11½ th day of gestation.



しているにもかかわらず、照射24時間後までは、対照と同様の傾向を示して重量が増加していることがわかった。その後は表6に示されるように、対照に対する重量減少は13½日より認められて、胎仔のそれとほぼ等しい値をもって経過する。

b) 胎仔ならびに胎盤の組織学的所見

胎仔は、各組織器官の分化の盛んな時期であるが、その後も、发育形成とともに分化が進められ、組織学的構造は逐次変化する。一方胎令11½日のマウス胎盤は図23に示すように最外部に一層の巨大細胞があり、その内側には抱擁層と呼ばれる、主として多核球形細胞より成る部分が存在する。さらにその内側は、絨毛層と呼ばれ、ジンチチュウム細胞および胎仔側毛細血管によつて迷路が形成されつつある。以後経日とともに、図24に示すように、絨毛層は旺盛な发育を示すが、基本的な構成様相はその後も変わらない。

照射された胎仔の中樞神経系は、照射3時間後に障害が認められた。すなわち図26に示すように、脳室壁に多数の核濃縮細胞が見られ、神経芽細胞の破壊と核分裂像の消失が認められた。図30は照射6時間後の脳室を示す。神経組織に著明な障害が見られるとともに、破壊細胞は脳室内に排除され、脳室壁内側に核分裂像も認められるようになった。図32は照射2日後（胎令13½日）の脳室を示す。食細胞による破壊細胞の除掃や組織の

修復像、ならびに組織の欠損や異常形成像が観察された。

図28は照射3時間後の胎盤を示す。核分裂像があり、組織、細胞の障害像は見出せなかつた。図34は照射2日後（胎令13½日）すなわち胎盤の重量増加率の減少が現われた時期のものであるが、何ら形態的な障害様相は認められなかつた。図36は照射4日後（胎令15½日）の胎盤を示す。細胞組織の障害様相は認められず、分化发育程度も対照と異なるところは認められなかつた。すなわちX線照射を受けた胎盤組織は、いずれの時期に至つても対照と同じ像を呈し、核分裂像が見られ、細胞破壊像、組織の壊死、変性像は見られなかつた。また母体側ならびに胎仔側血液量にも、著変は認められなかつた。

小括：本実験より、胎令11½日に242 radsのX線を照射した胎仔および胎盤の重量増加率は、いずれも正常より低く、胎仔は照射1日後より、胎盤は2日後より重量増加率の低下が始まることがわかつた。このことは一見、胎仔、胎盤ともにX線により障害された結果のように思われる。ところが組織学的な観察の結果、胎仔では照射数時間後より細胞組織の破壊がおこり、組織欠損や異常形成にまで導かれるが、胎盤は照射後のどの時期に至つても、障害様相としての組織形態学的な変化は認められなかつた。以上の所見より胎仔重量増加率の低下は、X線による直接の組織損傷の結果であることは明らかであるが、胎盤重量の増加率の低下については、X線照射による直接の原因とは考え難い。

そこで重量増加率の変化についてより詳細な検討を試みた結果、胎仔は、照射1日後すなわち照射直後から重量増加率が低下したのに対し、胎盤では、照射2日後すなわち胎仔より1日遅れて低下を始め、しかもその減少率は両者ともほぼ等しいことが認められた。

これらのことから、胎盤重量の低下は、X線の直接影響によるものではなく、胎仔の发育障害に伴つておこつた、二次的变化と考えた方が妥当であると思われる。

6) 胎仔ならびに胎盤形態形成の各時期におけ

るX線感受性について

胎令11 $\frac{1}{2}$ 日の胎盤は、胎仔同様の発育形成の途上にあるにもかかわらず、かなり強いX線抵抗性を示したが、さらに胎仔ならびに胎盤形成組織の形成各時期における、X線感受性をより詳細に検討するために、組織発生的な検索を行なった。

実験：胎令6 $\frac{1}{2}$ 日から10 $\frac{1}{2}$ 日の各妊娠日に192 radsと242 radsのX線を照射した。照射3および6時間後に屠殺開腹後、胚を子宮のまま摘出し、組織学的な観察を行なった。

観察は分化の程度によつて、中胚葉形成前期(胎令6 $\frac{1}{2}$ 日)、中胚葉形成期(胎令7 $\frac{1}{2}$ 日)、尿膜形成期(胎令8 $\frac{1}{2}$ 日)、体節形成期(胎令9 $\frac{1}{2}$ 日)、胎盤迷路形成期(胎令10 $\frac{1}{2}$ 日)に分けてそれぞれの胚葉について行なった。また一部は胎令15 $\frac{1}{2}$ 日に屠殺し、口蓋裂のある胎盤について組織学的に観察した。

結果：

対照群所見：胎令6 $\frac{1}{2}$ 日頃のマウス胚は図37に示す。胚は着床直後で、未だ中胚葉の出現を見ない時期である。この時期の胚は、円柱状を呈しているため egg cylinder と呼ばれ、対間膜側の胚体部と、間膜側にある胚体外部の2つの部分から成っている。前者は将来胎仔に分化する部分で、外側は一層の内胚葉細胞から成り、内側は胚体外胚葉から成る。後者は胎盤に分化する部分で、胚体部に連続する内胚葉と、胚体外外胚葉の2層およびこの外胚葉から子宮壁に向かって増殖している、外胚葉性胎盤円錐体から成っている。

胎令7 $\frac{1}{2}$ 日頃の胚は図39に示す。胚体部に中胚葉が出現し始め、外側より内胚葉、中胚葉、外胚葉の3層から成る。一方胚体外部は未だほとんど中胚葉がなく、羊膜と脈絡膜の原基が出現する他は前期とあまり変化はないが、外胚葉性胎盤円錐体は子宮壁に深く増殖する。

胎令8 $\frac{1}{2}$ 日頃の胚は図41に示す。全体として円錐形から球状に変わる。胚体部では、各胚葉の細胞の増殖により全体として大きくなるが、構造には著明な変化は表われない。

一方胚体外部では、内胚葉に変化はないが、外胚葉では外胚葉性胎盤円錐体が、子宮壁に向かっ

てさらに侵入するとともに円盤状に変化する。また胚体外外胚葉からは、羊膜や脈絡膜などが形成される。さらに胚体部の中胚葉から伸びた胚体外中胚葉からは、尿膜が形成され胎盤形成に加わる⁴⁴⁾。

胎令9 $\frac{1}{2}$ 日頃の胚は、胎体部と胚胎外部が分離し、尿膜によつて連絡されるいわゆる胎仔と胎盤の関係になる。この時期は胎仔では、陥入や回転がおこるとともに器官の原基ができ始める。その主なものとしては、外胚葉からは中枢神経が分化し、中胚葉からは体節が形成される。一方胎盤では、胚体外外胚葉および脈絡膜が外胚葉性胎盤円錐体に結合し、そこからチトジンチユウム細胞が分化する。またこれに中胚葉性の尿膜が伸びてきて、これらに侵入して血管内皮が分化する³⁰⁾⁴⁴⁾。

胎令10 $\frac{1}{2}$ 日頃は、胎仔では器官の分化形成が盛んになる。一方胎盤では、チトジンチユウムにより形成されたジンチユウムと、尿膜の侵入に伴つた血管内皮とにより迷路の形成が始まる。そしてこの2種の細胞を介して、胎仔血液と母体血液が接する Hemochorial type の胎盤が形成される²⁵⁾⁴⁶⁾。

照射群所見：中胚葉形成前期のものは図38に示す。胚体部の胚体外胚葉に、僅かであるが、細胞の破壊像と配列の乱れを認めた。一方胚体外部の胚体外外胚葉および外胚葉性胎盤円錐体の細胞には、障害像は認められなかつた。

中胚葉形成期のものは図40に示す。胚体部では、外胚葉、中胚葉ともに著明な障害像が認められた。すなわち多数の核濃縮細胞が見られ、破壊された細胞片は羊膜腔に溢出し、腔内を満たしていた。一方胚体外部では、胚体外外胚葉や、それに由来する脈絡膜ならびに外胚葉性胎盤円錐体には、多数の核分裂像が見られ、旺盛な増殖様相を呈し、核濃縮などの障害像は認められなかつた。

尿膜形成期のものは図42に示す。胚体部では、胚体外外胚葉および中胚葉に著明な障害像が認められた。

一方胚体外部では外胚葉性の脈絡膜や、胎盤円錐体および中胚葉性の尿膜には、核分裂像が見られ障害様相は認められなかつた。

体節形成期での胎子を図43に示す。外胚葉性の神経芽細胞や、中胚葉性の体節に著明な細胞破壊像が見られた。一方同期の胎盤を図44に示す。外胚葉性のチトジンチチウムや中胚葉性の血管内皮に障害像は認められなかった。

胎盤迷路形成期のもは、胎仔では、図43と同様に外胚葉組織ならびに中胚葉組織に著明な障害像が認められた。一方胎盤では図46に示すように、迷路部の外胚葉性のチトジンチチウムや、中胚葉性の組織に障害像は認められなかった。

さらに照射数日後すなわち胎令15 $\frac{1}{2}$ 日においても、胎仔には口蓋裂などの奇形が認められるものもあつたが、それらの胎盤には変化が認められなかった。

小括：本実験により、胚の各組織の各分化段階におけるX線による影響を、詳細に知ることができた。すなわち胎仔に分化する組織は、中胚葉形成前期では僅かな障害が認められるが、あまり著明ではなかった。中胚葉形成以後は内胚葉を除いて、外、中胚葉組織のどの部分にも著明な障害が認められ、そのため数日後には一次障害は消失しているが、内奇形や外奇形として観察された。一方胎盤に分化する組織は、中胚葉形成前期からどの分化段階においても、またいずれの胚葉、いずれの細胞集団においても障害様相は認められなかった。さらに数日後においても、照射による組織変化は現われなかった。

このことは胎仔の組織と胎盤の組織には、発生の初期からX線感受性にきわめて大きな差があり、X線の胚に対する影響はいずれの発生段階においても、ほとんど胎仔に直接働くものと考えられる。

また胎仔のX線に対する感受性は、中胚葉形成後は急に高くなることがわかつた。

III. 総括ならびに考案

放射線による奇形発現機序の一端を解明する試みとして、マウスを用いて、まず胎仔の吸収線量ならびに照射方法を検討した後、奇形発生に対する胎盤との関係を追求して上述の結果を得たが、ここに重ねて総括考案すると大旨以下のとおりである。

放射線により生体の受ける障害度は、照射線量ではなく、実際そこに吸収されたエネルギー量に関係するから、放射線による効果については、吸収線量で表示することは重要である。ところが従来から空中線量によつて表示されたものが多く、線量効果関係の比較に正確さを欠く場合も見られる。たとえば Chang ら¹⁰⁾¹³⁾は、動物に⁶⁰Coを全身照射してその胎仔が全部死亡する線量は、ハムスターの場合 200 R 兎の場合 400 R であつたことから、兎の方がハムスターより抵抗性であると述べているが、著者がちなみにマウス (30 g)、ラット (540 g)、兎 (1.7 kg) に X 線を全身照射して、子宮部 (背面からの深さは、それぞれ 2, 3, 4 cm) の深部線量を測定したところ、表面線量を 100% とすると、それぞれ 84%, 72%, 63% と減少した。このことは当然のことかも知れないが、空中線量だけの比較は危険であり、線量効果の関係は単純な照射線量だけではなく、吸収線量として行なわれるべきであることを示唆している⁵⁰⁾。

従来吸収線量による表示があまりされなかつた理由は、生体内における局所の線量測定が困難であつたからである。本実験では P T W の Simplex Universal Dosimeter No. 10958 の小型電離槽を用いて、子宮部の正確な線量を実測し、マウス胎仔の吸収線量を算出した。その結果、線量効果関係が正確に比較できるようになつた。

実験奇形の最も重要な目的は催奇形因子の働く発生段階の時期より、組織器官の形態形成異常に導かれる経過を解析して、正常発育からの歪を追求することであるから、条件づけられた胚 (胎仔) と同一環境で発育し、しかも同一発育段階の対照胚との比較が重要であることは既述のとおりである。従来のように同一発育段階の対照を異腹の母獣に求めることはきわめて困難であるが、同腹内では異腹間よりも胎仔の発育差は少ないことから、著者は、嚙歯類の子宮が双角であることを利用して、一側子宮角部だけを照射し、他側 (遮蔽側) の胚を対照とする方法を考案して、遮蔽側胚に対する影響について検討したのである。

まず遮蔽側子宮部の被曝線量を測定した結果、

照射側線量の約2%の被曝線量のあることが判明した。そこでこの被曝線量が、発育中の胎仔に与える影響を調べたところ、290 rads以上の線量を照射したとき、すなわち遮蔽側胎仔が約6 rads以上の被曝を受けたときは、やや発育障害が見られた。このことは高線量で実験を行なうときは、遮蔽側胎仔にもかなりの影響がおよぶことを示している。Russell⁸⁹⁾, Wilson⁴³⁾, Murakami and Kameyama²⁷⁾は、胎生期の発生に影響して、奇形を出現させる最低線量としては、25 Rであると報告している。したがって一側子宮角部照射法において、照射される線量が約1,000 R以上になれば、遮蔽側胎仔にも奇形が出現するかも知れない。現在奇形成立を目的とする研究では150—300 Rが適当線量である²⁶⁾といわれている。本実験では48—339 radsの線量を用いたが奇形の出現は1例もなく242 rads以下の線量では発育抑制も認められなかつた。

一方組織学的にはRugh and Grupp⁸⁴⁾⁸⁵⁾は5 Rでも卵割中の細胞や初期の神経細胞に変化が認められたと報告しているが、本実験でこの時期に最も感受性が高いといわれている¹⁴⁾⁸³⁾神経芽細胞について、組織学的に観察したが異常は認められなかつた。このことに関しては、Ostertagら³¹⁾も同様な報告をしている。

以上のことより、242 rads(空中線量268 R)照射では遮蔽側胎仔は5 rads程度の被曝があるが、奇形を対象とする実験においては、一側子宮角部照射法は有効であることを示している。

放射線による奇形の発生頻度および型は、照射時期や線量によつて異なることは衆知のとおりであり、哺乳動物における各種奇形の臨界期については、かなり詳細に報告されている¹⁸⁾⁸⁸⁾。しかし動物の系統や照射条件によつて効果が異なることもあるため、奇形誘導実験を行なう場合、使用動物の臨界期や、障害様相を詳しく観察しておく必要がある。

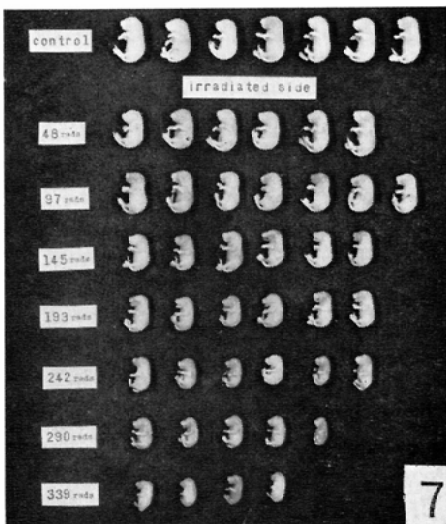
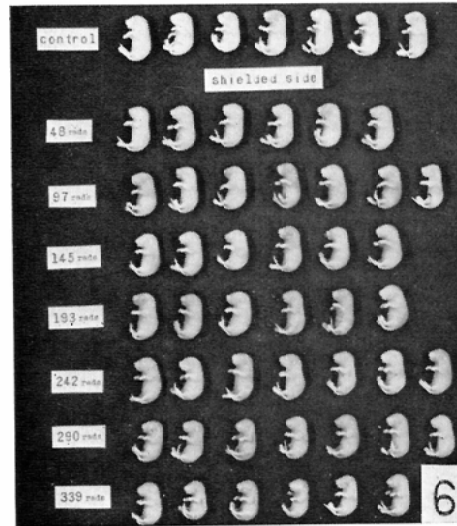
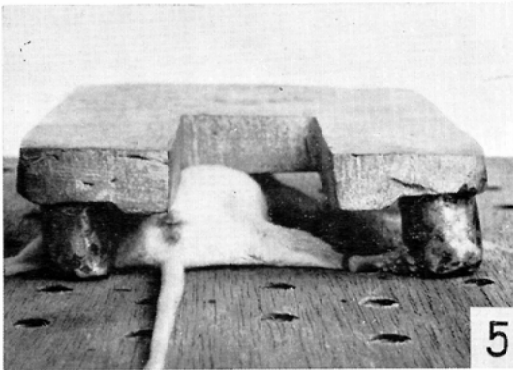
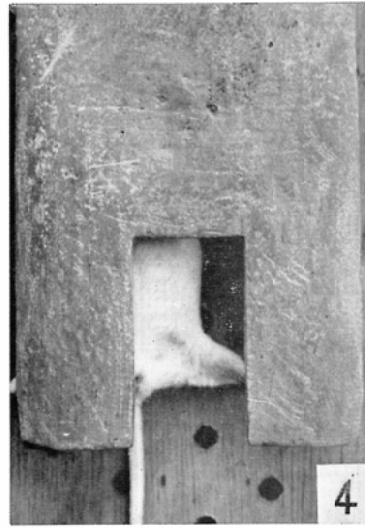
X線により誘導される奇形の種類は多数報告されているが、本実験では、主として口蓋裂について観察した。まず胎令別の出現傾向を知るために、胎令7 $\frac{1}{2}$ ~13 $\frac{1}{2}$ 日に193 radsと242 radsの

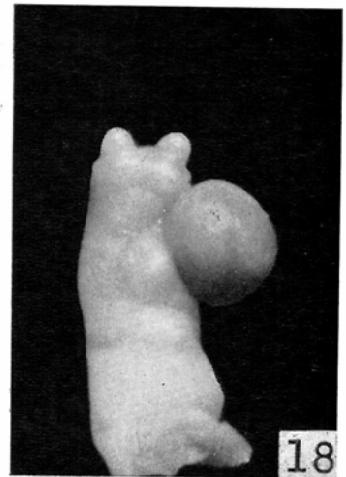
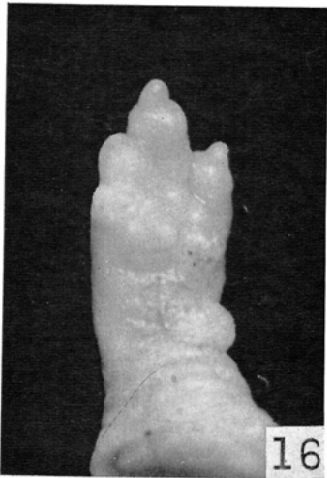
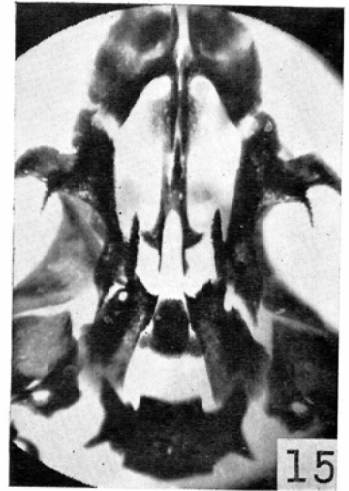
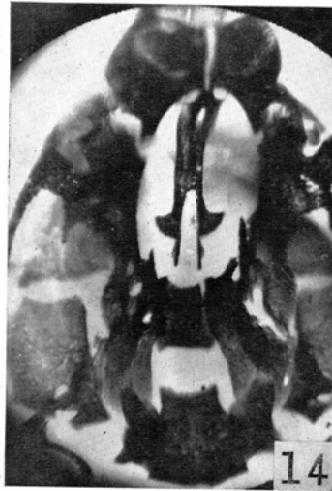
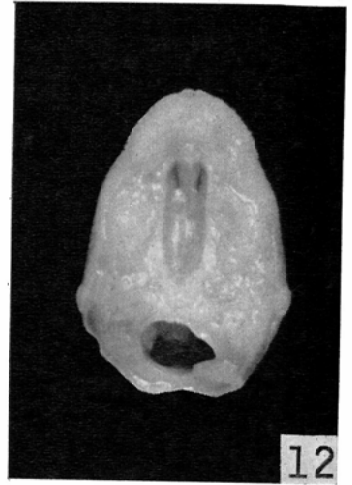
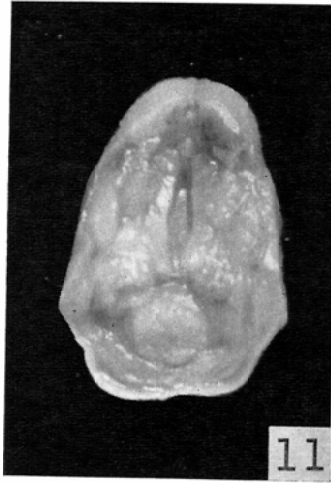
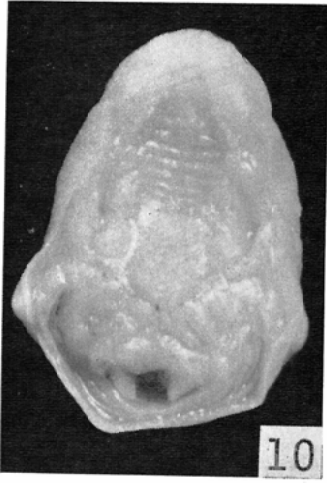
X線を照射した結果、口蓋裂の臨界期は7 $\frac{1}{2}$ 日から12 $\frac{1}{2}$ 日であり、この時期に口蓋裂の出現頻度は2つのピークを示した。すなわち胎令11 $\frac{1}{2}$ 日が最も高い出現率を示し、ついで8 $\frac{1}{2}$ 日あるいは7 $\frac{1}{2}$ 日で、9 $\frac{1}{2}$ と12 $\frac{1}{2}$ 日が最も低い値を示した。また死亡率(吸収率)は7 $\frac{1}{2}$ 日が最も高く、胎令の経過とともに減少した。これらの結果は、従来の報告²⁴⁾²⁶⁾⁸⁸⁾とはほぼ一致した成績を示している。

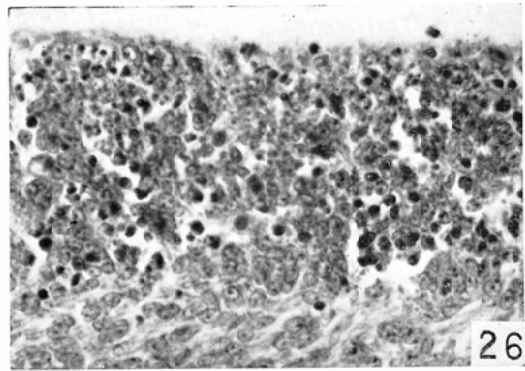
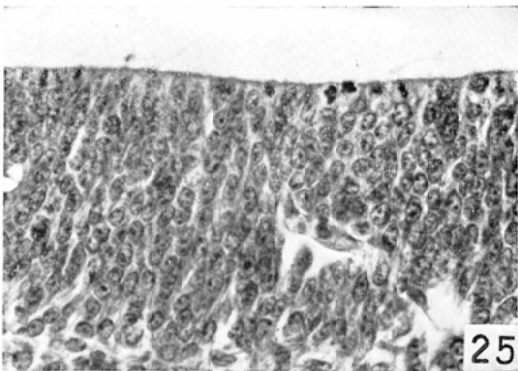
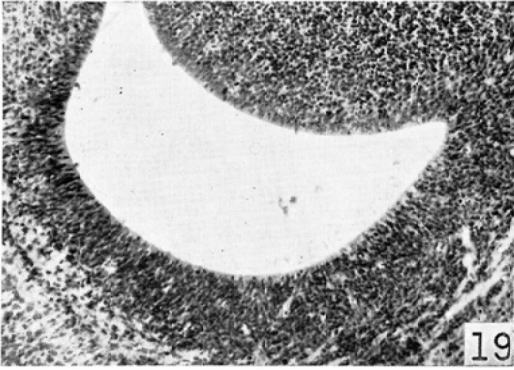
ついで線量による障害様相を観察するために、口蓋裂の臨界期の中で最も出現頻度の高い胎令11 $\frac{1}{2}$ 日に種々な線量を照射した。その結果、口蓋裂は193 radsより出現して、242 radsで100%出現することがわかつた。これは従来の報告ではあまり類を見ない高率であつた。X線照射による胎仔の障害については、線量の増加に伴つて著明になることはRussell and Russell⁸⁸⁾によつて明らかにされているが、本実験でも、線量に比例的に発育遅延が認められた。また奇形についても同様の線量効果関係を示し、線量の増加に伴つて、一般に奇形の種類およびその出現頻度が増加し、それぞれの障害度も増強した。

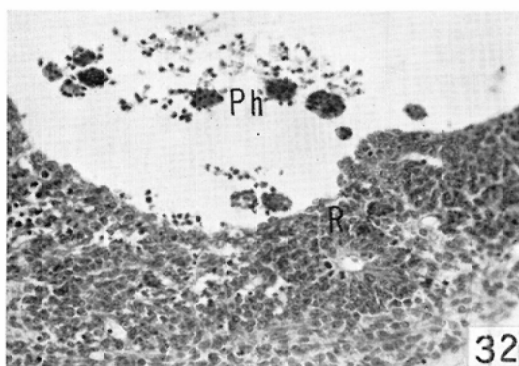
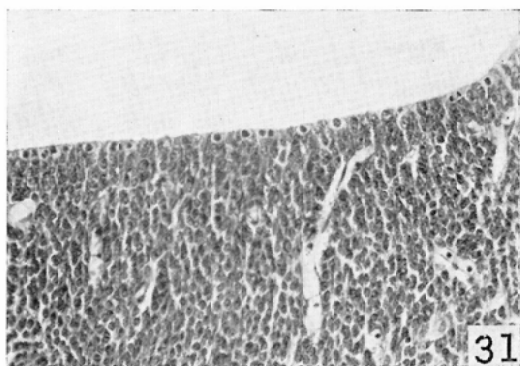
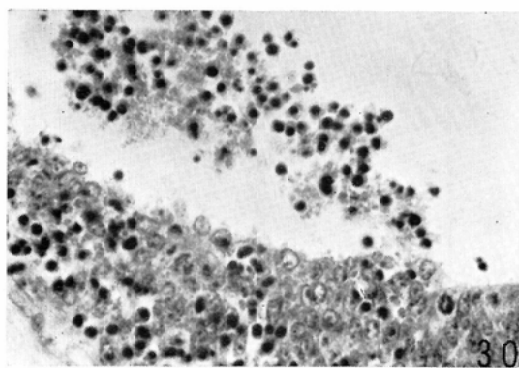
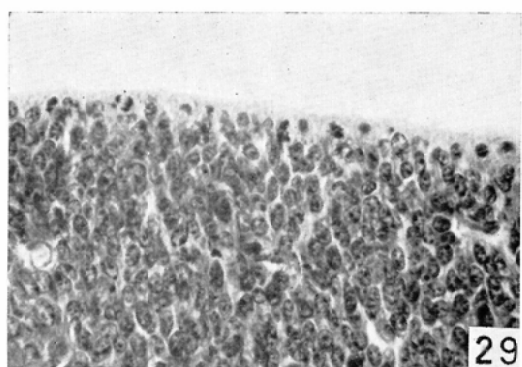
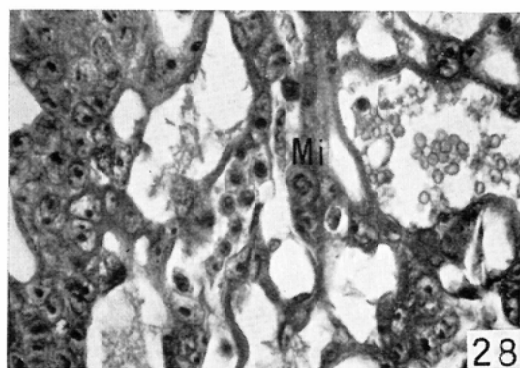
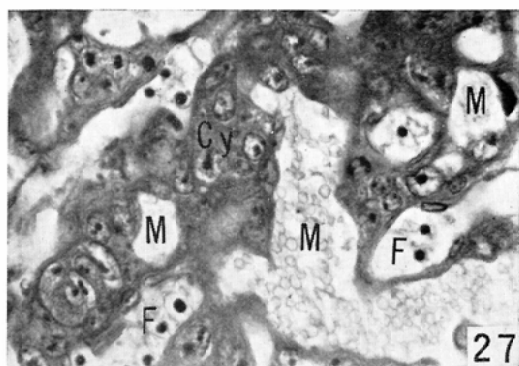
発育中の胎仔に催奇形因子が働く場合、直接胎仔に働く他、母体ならびに種々な器官の変化による間接的な作用、あるいは両者が重複して作用することが考えられる²⁹⁾。最近湖崎²⁸⁾はコーチゾン投与により、沢崎⁴⁴⁾は中性子照射により胎盤に組織学的な異常を認め、奇形との関係について報告している。X線照射では、Russell⁸⁸⁾が胎仔に対する作用は母体からの影響はなく、胎仔に直接作用すると考えて以来、胎仔に対する影響についてのみ観察が行なわれてきた。しかしX線による被曝は、胎仔のみではなく、胎仔の発生ならびに発育に直接関係のある胎盤にも行なわれているのであるから、その影響について追求することは、奇形発生機序解明の一助として、きわめて意義のあるものと思われる。

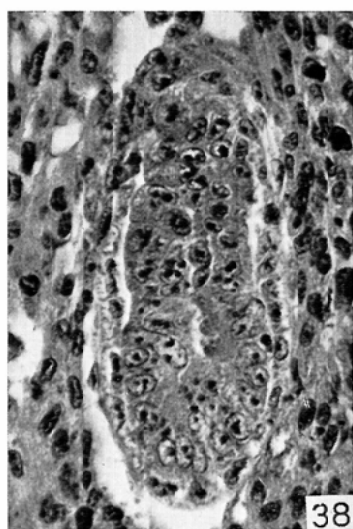
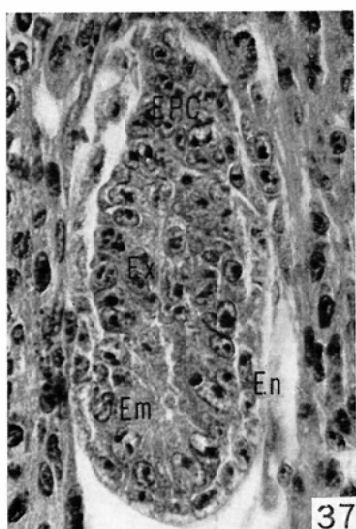
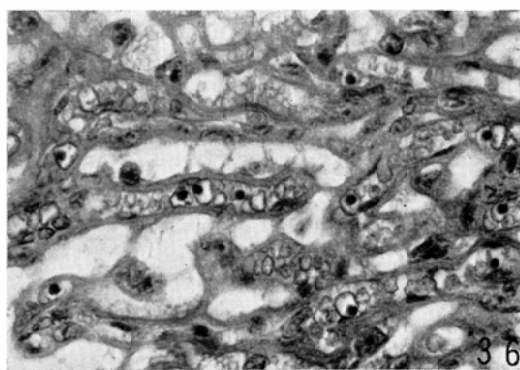
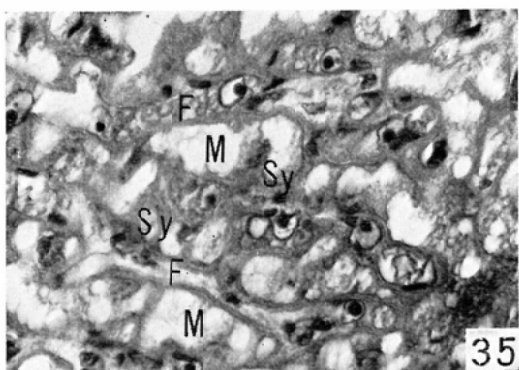
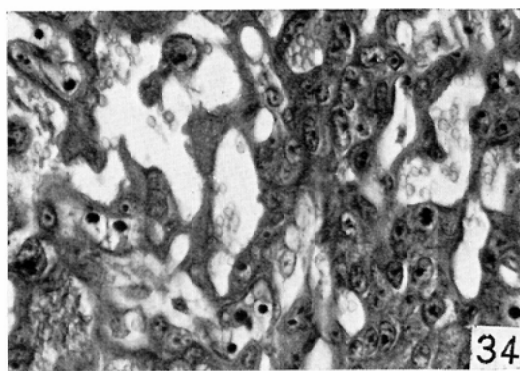
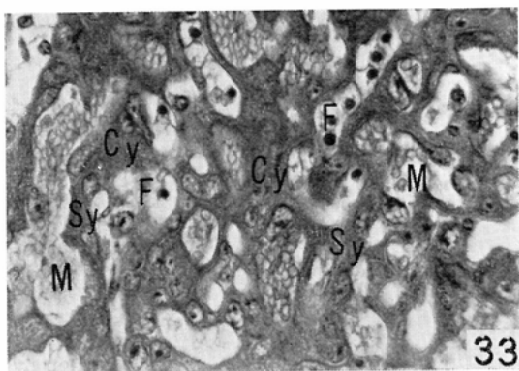
まず第1段階として、X線照射による胎盤の反応と奇形発生との関連性を検討するために、100%の口蓋裂を発生する胎令11 $\frac{1}{2}$ 日に、242 radsのX線を照射して、胎盤の変化と胎仔の変化を対比しながら追求したのである。

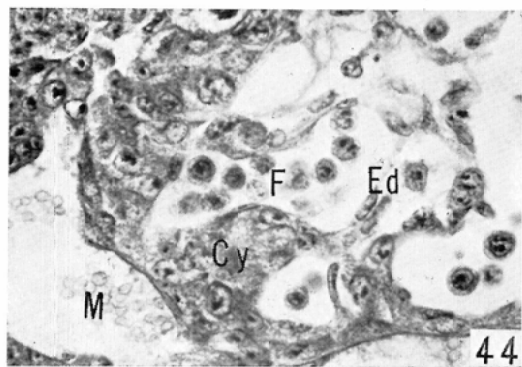
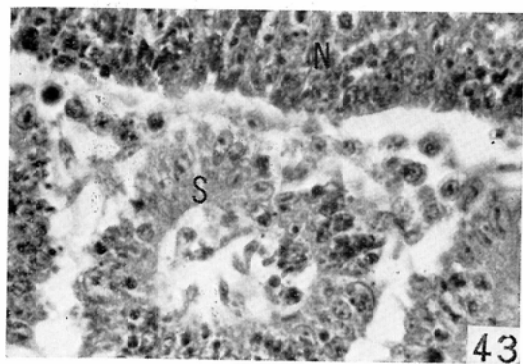
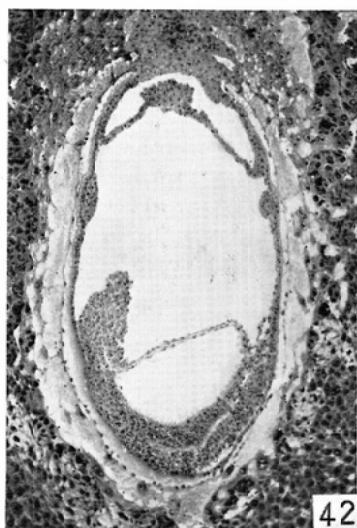
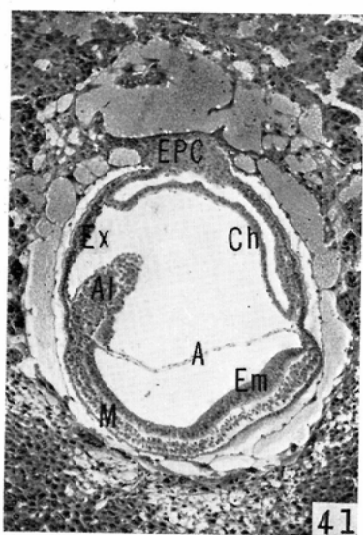
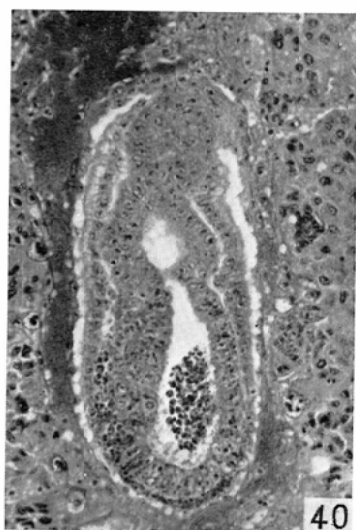
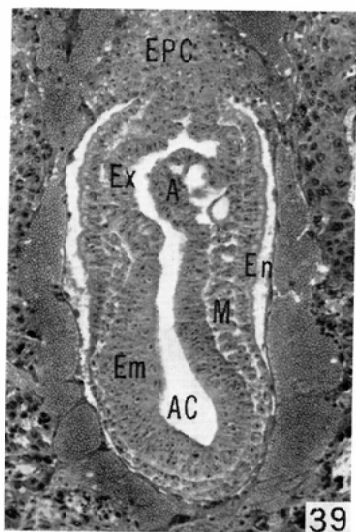


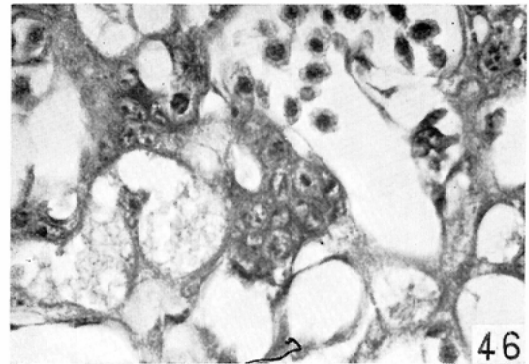
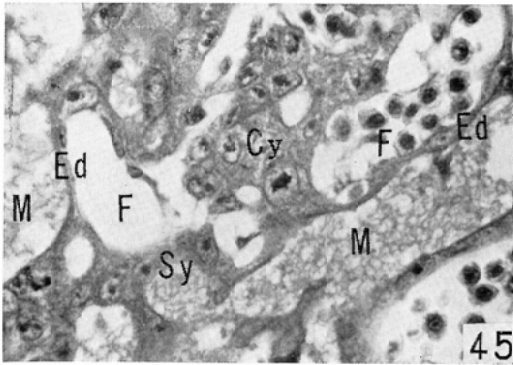












Explanation of Figures

- Fig. 1 Roentgenogram showing the position of ionization chamber.
- Fig. 4, 5 Mouse is shielded with lead plate, except for area on one side horn. upper view (Fig. 4), lateral view (Fig. 5).
- Fig. 6, 7 Fetuses of shielded side (Fig. 6) and irradiated side (Fig. 7), exposed with various doses from 48 to 339 rads at one side horn.
- Fig. 9 Neural tube of shielded fetus irradiated with 339 rads at one side horn on $11\frac{1}{2}$ th day of gestation. There is no histological change six hours after.
- Fig. 10 Palatal area of control fetus on $18\frac{1}{2}$ th day of gestation.
- Fig. 11 Irradiated fetus ($18\frac{1}{2}$ th day of gestation) exposed with 193 rads on $11\frac{1}{2}$ th day of gestation, showing its growth retardation and cleft palate formation.
- Fig. 12 Irradiated fetus ($18\frac{1}{2}$ th day of gestation), exposed with 242 rads on $11\frac{1}{2}$ th day of gestation, showing its more wide cleft of palate than Fig. 11.
- Fig. 13 Skull of control fetus ($18\frac{1}{2}$ th day of gestation) stained with arizalin red S.
- Fig. 14 Skull of irradiated fetus ($18\frac{1}{2}$ th day of gestation) exposed with 193 rads on $11\frac{1}{2}$ th day of gestation, showing growth disturbance of palatal processes of maxillary and palatal bones.
- Fig. 15 Skull of irradiated fetus ($18\frac{1}{2}$ th day of gestation) exposed with 242 rads on $11\frac{1}{2}$ th day of gestation, showing more severe growth disturbance than Fig. 14.
- Fig. 16 Ectodactylia (fore-limb) due to 242 rads irradiation on $11\frac{1}{2}$ th day of gestation.
- Fig. 17 Polydactylia (hind-limb) due to 193 rads irradiation on $11\frac{1}{2}$ th day of gestation.
- Fig. 18 Hemato-dactylia (hind-limb) due to 339 rads irradiation on $11\frac{1}{2}$ th day of gestation.
- Fig. 19 Ependyma of control fetus on $18\frac{1}{2}$ th day of gestation.
- Fig. 20 Ependyma of irradiated fetus ($18\frac{1}{2}$ th day of gestation) exposed with 242 rads $11\frac{1}{2}$ th day of gestation, showing rosettes (R) caused by abnormal morphogenesis.
- Fig. 23, 24 Entire view of control placentas on $11\frac{1}{2}$ th day (Fig. 23) and $15\frac{1}{2}$ th (Fig. 24) day of gestation. L: labyrinth, E: embracement zone, G: giant cell layer, D: desidua.
- Fig. 25 Ependyma of control fetus on $11\frac{1}{2}$ th day and 3 hours of gestation, showing many mitotic figures in inner layer of ependyma.
- Fig. 26 Ependyma 3 hours after irradiation with 242 rads on $11\frac{1}{2}$ th day of gestation, showing picnotic nuclei, disorder of cell arrangement, and no mitotic figure.
- Fig. 27 Labyrinth of placenta from same fetus as Fig. 25. F: fetal vessel and blood, M: maternal vessel and blood, Cy: cytosyncytium.
- Fig. 28 Labyrinth of irradiated placenta from same fetus as Fig. 26, showing no change. Reveals presence of mitotic figures (Mi) in cytosyncytium.
- Fig. 29 Ependyma of control fetus on $11\frac{1}{2}$ th day and 6 hours of gestation.
- Fig. 30 Ependyma 6 hours after irradiation with 242 rads on $11\frac{1}{2}$ th day of gestation, showing sever damage of neural tissue, and distructed cell mass fill in ventricle.
- Fig. 31 Ependyma of control fetus on $13\frac{1}{2}$ th day of gestation.
- Fig. 32 Ependyma 2 days after irradiation with 242 rads on $11\frac{1}{2}$ th day of gestation, showing appearance of phagocytes (Ph) and rosettes (R) formation. There are many mitotic figures in surface of ependyma.

- Fig. 33 Labyrinth of control placenta from same fetus as Fig. 31. Sy: syncytium.
- Fig. 34 Labyrinth of irradiated placenta from same fetus as Fig. 32, showing no damage. Syncytium and cyto-syncytium have mitotic figures, and they proliferate as well as control.
- Fig. 35 Labyrinth of control placenta on 15 $\frac{1}{2}$ th day of gestation.
- Fig. 36 Labyrinth 4 days after irradiation with 242 rads on 11 $\frac{1}{2}$ th day of gestation. It grows and differentiates as well as control.
- Fig. 37 Control embryo on 6 $\frac{1}{2}$ th day of gestation, showing embryonic portion (Em) and extra-embryonic portion (Ex, EPC). Em: embryonic ectoderm, Ex: extra-embryonic ectoderm, EPC: ectoplacental cone, En: entoderm.
- Fig. 38 Embryo 6 hours after irradiation with 193 rads on 6 $\frac{1}{2}$ th day of gestation. In embryonic ectoderm, disorder of cell arrangement and picnotic nuclei are seen, but there is no damage in extra-embryonic ectoderm and ectoplacental cone.
- Fig. 39 Control embryo on 7 $\frac{1}{2}$ th day of gestation, showing appearance of mesoderm layer between embryonic ectoderm and entoderm. A: amniotic fold, M: mesoderm, AC: amniotic cavity.
- Fig. 40 Embryo 6 hours after irradiation with 193 rads on 7 $\frac{1}{2}$ th day of gestation, revealing severe damage in embryonic ectoderm and mesoderm, and mass of damaged cell filling in amniotic cavity. But there is no damage in extra-embryonic portion; amniotic fold, extra-embryonic ectoderm, and ectoplacental cone.
- Fig. 41 Control embryo on 8 $\frac{1}{2}$ th day of gestation, showing allantois formation from mesoderm. Al: allantois, Ch: chorion.
- Fig. 42 Embryo 6 hours after irradiation with 193 rads on 8 $\frac{1}{2}$ th day of gestation. There is severe damage in embryonic mesodermal tissue, but no change in extra-embryonic mesodermal tissue (allantois).
- Fig. 43 Fetus 6 hours after irradiation with 242 rads on 9 $\frac{1}{2}$ th day of gestation, showing severe damage in ectodermal neural tube (N), and mesodermal somites (S).
- Fig. 44 Labyrinth of irradiated placenta from same fetus as Fig. 43, showing no damage in ectodermal cytosyncytium (Cy) and mesodermal endothel (Ed).
- Fig. 45 Labyrinth of control placenta on 10 $\frac{1}{2}$ th day of gestation.
- Fig. 46 Labyrinth 6 hours after irradiation with 242 rads on 10 $\frac{1}{2}$ th day of gestation, showing no change in any tissue.

放射線による生体の障害は、重量の変化で最もよく表わされる。放射線障害と胎仔重量増加の減少との関係については、すでに Wilson⁴⁶⁾⁴⁷⁾, Russell³⁸⁾⁴⁰⁾, Hicks⁴⁵⁾らにより明らかにされている。一方放射線照射による胎盤重量の変化については、未だ明らかにされていない。すなわち Walker⁴⁵⁾, Knopp²²⁾ 沢崎⁴¹⁾らは、放射線照射による発育障害を認めているが、南条²⁸⁾は変化を示さなかつたことを報告している。

本実験では、胎盤重量は胎仔重量と同様に対照より低い値を示し、明らかに発育障害が認められた。そこでこの障害様相の実態を知るために、組織学的な観察を行なった結果、胎仔には著明な組織障害、欠損、異常形成などが見られたが、胎盤には放射線による組織形態学的な変化は見られなかつた。このことは Finegold and Michie¹²⁾ や Knobel and Michie²¹⁾ らが、マウスに400—1,000 RのX線を照射した後も、母体赤血球および血漿

アルブミンの胎盤通過性に変化が認められなかつたことから、X線による胎盤の破壊を否定している報告や、平岡¹⁷⁾¹⁸⁾がマウス胚に³²P, ⁴⁰Srを経胎盤的に投与した結果、胚に著明な障害を認めるが、胎盤に変化が現われなかつたと報告し、Brent⁵⁾はX線を胎盤のみに選択的に照射しても、胚の死亡率増加や奇形の出現が認められなかつたことより、胎盤は放射線に対して比較的抵抗性であると述べていることがらとよく一致する。一方沢崎⁴¹⁾は妊娠マウスの各時期に中性子の照射を行ない、主として病理組織学的に検索した結果、重量の減少とともに胎盤組織の変性、壊死などの障害を認めている。しかしこれは、X線と中性子の線質の相違⁵⁰⁾⁵¹⁾によるのかもしれない。

Knopp und Trautmann²²⁾は胎令7日のマウスに200 RのX線を照射して、胎盤迷路部の量的変化を経日的に測定した結果、対照より低下していることを認め、その変化はX線によるものと考え

たが、形態学的に障害様相のなかつた点についての考察は行なっていない。本実験から、胎盤は組織学的に障害様相が認められなかつたにもかかわらず、重量増加率の減少がおこつた点について考察してみると、胎仔重量はその組織学的変化とも一致して、照射直後より重量増加率の減少がおこつたが、胎盤重量は照射2日後、すなわち胎仔より1日遅れて増加率の減少がおこつた。そしてその後の減少率は両者ともほぼ等しいことから胎仔がまず障害されて発育抑制をきたし、胎盤がそれに応じた発育しか行なわれないうために、正常な発育をしないものと思われる。すなわちX線照射による二次的变化と考えた方が妥当である。Johnson²⁰⁾は胎令8日から10日のラットにPGA欠乏食を与えた結果、胎仔には10日より障害様相が現われるが、胎盤は12日あるいは13日まで正常で、それ以後に組織学的な変化が認められたことより、胎盤の変化は胎仔の死亡に伴う二次的な変化であると報告している。

さきの実験で胎令11 $\frac{1}{2}$ 日の胚における胎盤は、組織学的にX線感受性は胎仔よりきわめて低いことを示したが、一般に放射線の組織におよぼす効果は、細胞集団の種類、および特定の細胞でもその分化程度によつて異なることはよく知られている⁴²⁾。

Rugh³⁶⁾は Ambrystoma の胚子にX線を照射して、組織学的に観察し、組織分化の進行中の中枢神経系や目の組織に高度の障害を認めたが、組織分化の進んだ軟骨や筋肉には障害はなかつたと報告している。これは照射が同時期であつても、各器官により分化程度が異なるため感受性の差異を生じたことを示している。

Allen and Ewell¹⁵⁾, Piatt and Kusner³²⁾は Ambrystoma の体肢形成過程にX線を照射し、間葉細胞の影響を観察した結果、未分化の過程で照射した場合は形成が抑制されたが、進んだ時期で照射した場合は、成長分化は進行したと述べている³⁾。また Hicks¹⁶⁾は発育中の中枢神経系の神経細胞に対するX線の影響を詳細に観察し、神経芽細胞の時期が最も障害されたと報告している。これらは同一組織および細胞においても、照射時期が

異なれば感受性が異なることを示している。

Brunst⁹⁾, Allen and Devick²⁾らは、Bufo の発育中の目にX線および γ 線を照射して、網膜縁部部の神経細胞および内顆粒層に変化が現われたが、桿状体および錐状体には変化がないことを観察し、これは辺縁部が未だ分化過程にあるからだとして述べている。また最近 Rugh and Skaredoff³⁷⁾はサルの胎児にX線を照射し、その網膜を観察して分化の最も進んでいる視神経の入口に近い後方部と、分化の最も遅れている錐状縁に近い前方部では、非常に抵抗性を示したが、その中間部の視神経芽細胞の部分には、著明な変化を認めたと報告している。これらは同一原基から発育した1つの器官の組織でも、部位により分化程度が異なるため、感受性に差が現われたことを示している。

以上の報告から見て、胎仔と同一胚より発生する胎盤組織が、発生初期においてX線に対していかなる反応を示すかを検索することは興味深く、また胎盤と奇形発生との関係をより明確にするためには重要なことといえる。そこで第2段階として、胚の各発生段階における胎盤のX線による影響を、胎仔のそれと比較しながら組織発生学的に追求したのである。すなわち胚の、ある時期の分化の特徴に応じて、中胚葉形成前期、中胚葉形成期、尿膜形成期、体節形成期、胎盤迷路形成期に分け、それぞれの分化期において胎仔側と胎盤側の各胚葉について比較検討した。その結果、胎仔側では中胚葉形成前期にはX線感受性がかなり低い。ところがその後形態形成期に入ると、外、中胚葉ともに強いX線感受性を示した。一方胎盤側はいずれの発育時期においても、外、中胚葉ともに強いX線抵抗性を示した。この感受性の相違は、ある一時期すなわち体節形成期頃では、胎仔側ではやつと各器官の分化が始まった時期であるのに対し、胎盤側ではほとんど分化が進んでいることから Rugh ら³⁶⁾の報告のように分化程度の差として説明されうるかもしれない。しかし発生初期の胎仔側と胎盤側の分化程度に、あまり差がないと考えられる初期においても、両者の間にX線感受性の明瞭な差を示した。ことに尿膜は胎仔側中胚葉より後から形成されるにもかかわらず、常

に胎仔側組織の方が強い感受性を示したことは、これまでの報告¹⁾³²⁾による分化程度の差のみでは説明され難い。この理由についてはさらに詳細な検討が必要である。

本実験に用いた線量では、胎盤組織には変化が認められなかつたが、さらに高線量を使用すれば、障害が現われることは当然考えられる。新発田⁴²⁾は胎令5日のマウス胚に400RのX線を照射して、胎令6日に観察し、外胚葉性胎盤円錐体に変化があつたと報告している。また Chang¹⁰⁾らは兎の胎令7, 8日に400Rの⁶⁰Coを照射して、24時間後に同部の細胞に空胞化などの変化を認めたと報告している。しかし高線量の照射では、胚は分娩前にすべて死亡するゆえ、奇形との関係を論じる場合無意味である。

放射線による組織形態学的な変化は、細胞あるいは組織の種類によつて、照射後直ちに現われるものと、数時間後あるいは数日後に現われる場合がある⁹⁾。本実験では、照射3, 6時間後の他、4日後(胎令15½日)の胎盤組織についても調べたが、変化は認められなかつた。

胎盤と胎仔は、同一胚から発生するにもかかわらず、組織学的に見て両者の間に発生初期からX線感受性の相違があることは、きわめて興味深い所見であつたが、この理由については今後さらに詳細な検索が望まれる。

IV. 結 論

X線による奇形発現機序の一端を明らかにするために、まず従来のX線奇形誘導の実験方法の検討を試みた。すなわちマウスを用いて胎仔の正確な吸収線量を測定し、ついで同腹内の胎仔を対照とするための照射方法を確立した。さらに口蓋裂を誘導する線量での胎盤の変化、ならびに胎仔組織と胎盤組織のX線感受性について、正確な対照との比較のもとに検討した結果、つぎのような結論を得た。

1. 奇形誘導実験では、マウスの一側子宮角部の照射方法における遮蔽側の胎仔は、対照として用いることができる。

2. ddoマウスの妊娠11½日に242radsのX線を照射することにより、100%の口蓋裂を誘導す

ることができた。

3. 242 rads のX線照射により胎盤の發育抑制が見られた。しかし組織学的に障害が認められなかつた点から、胎仔の發育障害に伴う二次的变化と考えられた。

4. 胎盤のX線感受性は、胚発生の初期より各形態形成期において、胎仔よりもきわめて低いことがわかつた。

以上のことよりX線照射による奇形の誘導は、胎仔に対するX線の直接影響がその主体を成していることが確認された。また胎仔形成組織と胎盤形成組織は、発生初期よりX線感受性に明瞭な差のあることが判明した。

稿を終るに臨み、終始御懇切な御指導、御校閲をたまわつた、川勝賢作教授に衷心より意を表します。また本研究遂行にあつて常に適切な謝御指導、御教示をいただいた元本学講師、現大阪歯科大学藤木芳成教授に深謝致します。さらに種々御援助、御助言をいただいた淵端孟講師、ならびに本学医学部放射線医学講座東巖教官に深く感謝致します。

あわせて種々御助力いただいた当科清川誠技官他各位に感謝致します。

本論文の要旨は、[第3回日本先天異常学会(名古屋、昭和38年7月)、第5回日本先天異常学会(京都、昭和40年4月)、第2回胎盤学会(東京、昭和40年2月)、第25回日本医学放射線学会(鹿児島、昭和41年4月)、第8回日本先天異常学会(東京、昭和43年4月)、第9回日本歯科放射線学会(高田市、昭和43年10月)において発表した。

なお本研究は一部文部省科学研究費(昭和42年度、NO. 740055)によつた。

文 献

- 1) Allen, B.M. and Ewell, L.B.: J. Exp. Zool. 142 (1959), 309—335.
- 2) Allen, B.M. and Devick, M.H.: Biol. Bull. 112 (1957), 137—143.
- 3) Bloom, W. and Bloom, M.A.: Radiation Biology, Chap., 17. p. 1091—1097, MacGraw-Hill New York, Toronto, London, (1954).
- 4) Brent, R.L. and McLaughlin, M.M.: Am. J. Dis. Child. 100 (1960), 90—102.
- 5) Brent, R.L.: Am. J. Dis. Child. 100 (1960), 103—108.
- 6) Brent, R.L. and Bolden, B.T.: Rad. Res. 30 (1967), 759—773.

- 7) Brent, R.L. and Bolden, B.T.: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 125 (1967), 709—712.
- 8) Brent, R.L. and Bolden, B.T.: Rad. Res. 36 (1968), 563—570.
- 9) Bruns, V.V.: Am. J. Roent. 73 (1955), 281—293.
- 10) Chang, M.C., Hunt, D.M. and Harvey, E.B.: Anat. Rec. 145 (1963), 455—465.
- 11) Ellinger, F.: Medical Radiation Biology, Chap. 5, p. 67—77. Thomas, Springfield, Illinois, U.S.A. (1957).
- 12) Finegold, M. and Michie, D.: J. Embryol. Exp. Morph. 9 (1961), 618—622.
- 13) Harvey, E.B. and Chang, M.C.: J. Cell. Comp. Physiol. 59 (1962), 293—305.
- 14) Hicks, S.P.: Am. J. Roent. 69 (1953) 272—293.
- 15) Hicks, S.P.: J. Cell. Comp. Physiol. 43 (1954), 151—178.
- 16) Hicks, S.P.: Physiol. Rev. 38 (1958), 337—356.
- 17) 平岡昭治: 解剖学雑誌, 36 (1961), 239—245.
- 18) 平岡昭治: 解剖学雑誌, 36 (1961), 161—171.
- 19) Job, T.T., Leibold, G.J. Jr. and Fitzmanrice, H.A.: Am. J. Anat. 56 (1935), 97—117.
- 20) Johnson, E.M., Nelson, M.M. and Monie, I.W.: Anat. Rec. 146 (1963), 215—224.
- 21) Knobel, D.P. and Michie, D.: J. Embryol. Exp. Morph. 9 (1961), 623—627.
- 22) Knopp, J. und Trautmann, J.: Strahlentherapie 110 (1959), 70—82.
- 23) 湖崎武敏: 阪大歯誌12 (1967), 195—211.
- 24) 増山弥太郎: 阪大歯誌 4 (1959), 847—870.
- 25) 本村彪: 久留米医学会雑誌22 (昭34), 1728—1739.
- 26) 村上氏広, 亀山義郎: 先天異常 1, 2 (1963), 1—21.
- 27) Murakami, U. and Kameyama, Y.: A.M. A. J. Dis. Child. 96 (1958), 272—277.
- 28) 南条浩: 解剖学雑誌40 (1965), 209—213.
- 29) 西村秀夫, 村上氏広, 森山豊: 先天異常, その成因と対策, 金芳堂, 昭41.
- 30) 大橋義郎: 東京医学会誌34 (1920), 443—475.
- 31) Ostertag, B., Schau, H.J. und Wellman, E.: Strahlentherapie 129 (1966), 258—262.
- 32) Piatt, J. and Kusner, D.B.: J. Exp. Zool. 145 (1960), 251—262.
- 33) Rugh, R.: Radiology 71 (1958), 729—731.
- 34) Rugh, R. and Grupp, E.: Exp. Cell. Res. 25 (1961), 302—310.
- 35) Rugh, R. and Grupp, E.: Am. J. Roent. and Radium Therapy 87 (1962), 455—566.
- 36) Rugh, R.: J. Morphol. 85 (1949), 483—501.
- 37) Rugh, R. and Skaredoff, L.: Arch. Ophthal. 74 (1965), 382—393.
- 38) Russell, L.B. and Russell, W.L.: J. Cell. Physiol. 43 (1954), Suppl., 1, May, 102—149.
- 39) Russell, L. B.: Proc. Soc. Exptl. Biol. 95 (1957), 174—178.
- 40) Russell, L.B.: Radiation Biology, II. p. 861—918, MacGraw Hill, N.Y. Toronto, London, (1954).
- 41) 沢崎忠男: 広島産婦誌 3 (1964), 199—223.
- 42) 新発田杏子: 日本公衛雑誌 12 (1965), 681—689.
- 43) Snell, G.D., Fekete, E., Hummel, K.P. and Law, L.W.: Anat. Rec. 76 (1940), 39—54.
- 44) Snell, G.D.: The early embryology of the mouse. Biology of the laboratory mouse, Chap. 1, p. 1—54, Dover, 1956.
- 45) Walker, B.E.: Exp. Biol. and Med. 118 (1965), 606—609.
- 46) Wilson, J.G. and Karr, J.W.: Am. J. Anat. 88 (1951), 1—34.
- 47) Wilson, J.G., Jordan, H.C. and Brent, R.L.: Am. J. Anat. 92 (1953), 153—187.
- 48) Wilson, J.G., Brent, R.L. and Jordan, H.C.: Proc. Soc. Exptl. Biol. 82 (1953), 67—70.
- 49) Wislocki, G.B. and Dempsey, E.W.: Anat. Rec. 123 (1955), 33—63.
- 50) 吉永春馬, 田淵昭: 広島産婦人科医学会誌 2 (1963), 6—14.
- 51) 吉永春馬: 日新医学, 50 (1963), 1—9.