



Title	無尾両生類幼生に対するX線・ γ 線の分割照射の効果について (II) Rhacophorus schlegelii arborea について
Author(s)	田中, 紀元
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1966, 26(7), p. 914-921
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/20032
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

無尾両生類幼生に対する X 線・ γ 線の分割照射 の効果について

〔II〕 *Rhacophorus schlegelii arborea* について

京都府立医科大学・生物学教室

田 中 紀 元

The Effect of Fractionated X-Rays and γ -Rays on the Tadpole of Amphibia

(II) On the *Rhacophorus Schlegelii arborea*

Norimoto Tanaka

Biological Laboratory, Kyoto Prefectural University of Medicine., Kyoto.

The effect of fractionated X-ray and γ -ray irradiation was studied on the survival response of *Rhacophorus* tadpole.

The materials employed in this experiment were obtained from a site near the university as an egg block and *Rhacophorus schlegelii arborea* tadpoles, 12-23 mm, from the same egg block, were used.

The radiation factors used were the following: 80 kvp, 4 ma X-ray with no filtration at a rate of 300 R/min., and an animal-to-target distance of 10 cm.

The animal were given whole body irradiation with X-rays and γ -rays. The γ -rays with Co^{60} source were operated with a dose-rate of 38.8 R per minute as measured in air with a SHIMAZU B 421 dose meter chamber, and a target-to-animal distance of 48 cm.

The experimental method was done as a follows,

Experiment 1. Radiosensitivity in developmental stages,

1-1	Body length	12 mm	600 R
1-2	Body length	12 mm	900 R
1-3	Body length	15 mm	900 R
1-4	Body length	15 mm	1200 R
1-5	Body length	22 mm	900 R
1-6	Body length	22 mm	1800 R

In the above case, the number of subjects employed in the experiment was 25 animals, in each group.

The X-rays machine was operated at a dose-rate of 300 R/min.

Experiment 2. Response to vaying dose-rate

2-1	300 R/min.	during the 6 minute irradiation	1800 R
2-2	75 R/min.	during the 24 minute irradiation	1800 R

In this case, the subjects employed in the experiment were fifty 21 mm tadpoles in each group.

Experiment 3. Shortened Time-Interval in fractionated irradiation and change in initial irradiated dose

3-1	1200 R	20 min.	600 R
-----	--------	---------	-------

3-2	1200 R	180 min.	600 R
3-3	600 R	20 min.	1200 R
3-4	600 R	180 min.	1200 R
3-5	1800 R		

The subjects employed in this experiment were fifty 21 mm *Rhacophorus* tadpoles in each group. The radiation was delivered at 300 R/min.

Experiment 4. Time interval factor effect on irradiation

4-1	900 R	12 hr.	900 R
4-2	900 R	24 hr.	900 R
4-3	900 R	48 hr.	900 R
4-4	1800 R		

The subjects employed in this experiment were fifty 21-23 mm tadpoles in each group. The dose-rate of X-irradiation was 300 R/min.

Experiment 5. Fractionated effect and cooling in time interval on the body length of 12 mm

5-1	1200 R				
5-2	600 R	24 hr.	600 R		
5-3	600 R	C, 24 hr	600 R		
5-4	600 R	12 hr	600 R		
5-5	600 R	C, 12 hr	600 R		
5-6	400 R	24 hr	400 R	23 hr	400 R
5-7	400 R	C, 24 hr	400 R	C, 24 hr	400 R
5-8	400 R	12 hr	400 R	12 hr	400 C
5-9	400 R	C, 12 hr	400 R	C, 12 hr	400 R
5-10	Kept cool (for 3 days) OR				

The C in the above means was kept at 11°C. The number of animals used was 50 in each group.

The individual experimental results are shown in Figs. 1, 2, 3, 4, 5.

Experiment 6. Fractionated effect on γ -irradiation with Co^{60} source

6-1	1552 R		
6-2	776 R	6 hr	776 R
6-3	776 R	12 hr	776 R
6-4	776 R	24 hr	776 R
6-5	776 R	48 hr	776 R
6-6	776 R		
6-7	Non-irradiated control OR		

The subjects employed in this experiment were twenty-five 19-21 mm tadpoles in each group. The number of the non-irradiated group was 5 animals. After irradiation the animals were kept at 20-23°C in the Coito-trone room. Ten animals were selected at random and weighed.

The results of the experiment regarding body-weight and survival response are shown Figs. 6, 7, respectively.

- 1) The difference of changing the dose-rate in single dose exposure donot differrespectively.
- 2) Fractionated exposure consisted of two fractions spaced at 20 or 180 minutes time intervals.

There is no difference in survival response between the fractionated exposure and the single dose irradiation (Fig. 3)

3) The effects of fractionated irradiation with X and γ -ray on the *Rhacophorus schlegelii* tadpole have more of a tendency to decrease radiosensitivity than the single dose irradiation, however, these effects are relative to body length, environmental temperature after irradiation and other unknown conditions.

4) The effect of fractionated irradiation in these experiments is related to time intervals and number of fractions. The author have a plane to study the reciprocal relations of time-intervals and fractionated numbers.

5) The difference between the *Rhacophorus schlegelii* arborea and *Rana nigromaculata* regarding fractionated irradiation effects seems perhaps related to biological species, physiologically, developmentally, and ecologically in both species, each other.

緒 言

一般に、X線を分割照射することによつて、生体に及ぼす放射線障害が単一照射の場合よりも著しく軽減されることは哺乳類を用いた実験によつて理解されている事実である。これについての解釈は、一般的に次のように言われている、照射と照射との間に放射線障害からの回復があるとか、もしくは頻回の照射により生体に抵抗性が生じるとか言われている。しかしながら、先の報告¹⁾によつて、無尾両生類幼生の *Rana nigromaculata* に対してはX線分割照射を行なうと、哺乳類でみられている回復、あるいは抵抗性は認められなかった。さらに、このような現象が同じ無尾両生類である *Rhacophorus* についても観察し得るかどうかを確かめた。今回は、線量率、初期線量の変化、照射時間因子等を考慮しなから、以下6つのシリーズの実験を行なつた。

材料及び飼育・照射条件

材料は京都市内で採集した *Rhacophorus schlegelii* arborea の幼生を用いた。実験に供した材料は12~23mmの体長を有するもので、実験によつて異なつた体長の個体を用いたが、基本的には藤原(50, 51)²⁾による *Rhacophorus* での実験から、体長20mmの幼生で中腎が発達して、この時期を境に、第Ⅰ型、後に第Ⅱ型の赤血球が出現する事から20mm以上の個体を用いた。各実験では同一卵塊から発生した個体を使つた。飼育は直径25cmのシャーレに水草を浮かし、照射後の観察は、午前、午後の2回行ない、死亡した個体を除去し

た。尚、水換えは毎日行なつた。生存曲線は最後の照射を行つた後から記録した。飼育温度は大部分は23℃~32.5℃の室温で行なつたが一つのシリーズは温度条件を一定にし、20℃~23℃のコイトロン飼育室で行なつた。X線照射条件は80 kVp, 4 mA, フィルターなし、動物一焦点間距離10cmで300R/minで行ない、 γ 線は⁶⁰Coを用い、動物一線源間距離48cmで、島津線量計B 421の測定で38.8R/minで照射した。

実験方法及び実験結果

実験 1. 発生段階におけるX線感受性の差異

1-1	体長	12mm	600R
1-2	体長	12mm	900R
1-3	体長	15mm	900R
1-4	体長	15mm	1200R
1-5	体長	22mm	900R
1-6	体長	22mm	1800R

各群25匹ずつを用い、飼育温度は室温23~32.5℃で行なつた。

実験結果

第1図に示した。図示されている如く、15mmを除き、他の群ではその生存曲線はふえた線量に依存しているが、各体長に共通した900Rでは最終生存率がほぼ同じ程度を示している事はむしろ注目すべき事である。発生途次にある動物を対象とした為に、放射線生物学での一般的な考え方からすれば12mmと22mmで差異があり、12mmにおいてより感受性が高い事が予想されたからである。しかし、体長22mmで比較的赤血球の状態が成熟赤血球化し、安定している時でも1800R照射時にはその

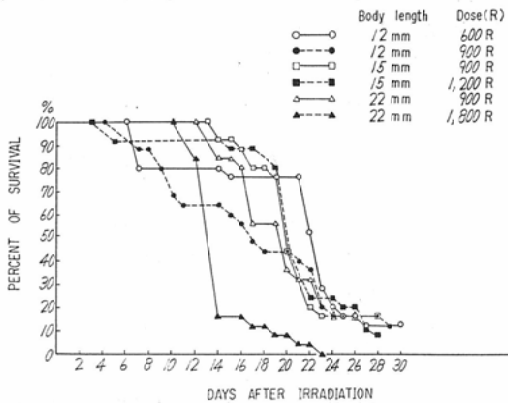


Fig. 1. Radiosensitivity in developmental stages.

生残率は最小値しか得ていない。Median survival timeでは(1-1), 22日, (1-2), 17日, (1-3): 20日, (1-4): 20日, (1-5), 20日, (1-6): 13日となっており, 900Rでの比較では12mmがやや早く, 15mm及び22でmmはほとんど同じで, 全体として余り差異がみられない。

実験 2. 線量率を変えた場合

体長21mmを使用し, 実験方法次の如し

2-1 300R/min照射時間6分 1800R

2-2 75R/min照射時間24分 1800R

飼育温度は室温(25~33°C)で行ない, 同一卵塊から発生した個体, 各50匹ずつ供した。

(実験結果)

第2図に示した。これによると, 観察した日数26日間で与えた線量が同一であれば線量率が変わっても, その生存残曲線はほとんど変わらない事

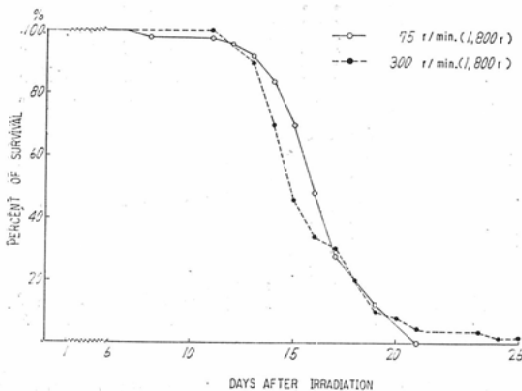


Fig. 2. Response to varying dose-rate.

がわかる。Median survival time も15日前後でほぼ実験1の同線量と類似している。(2-1)

(2-2)共に照射後10日頃から死ぬ個体が現われ, 漸次, 生残曲線は下降してゆく。単一照射で行なえば照射時間の長短(6あるいは24分)および線量率には関係がなく, 単にその与えた線量に従う事が理解出来る。

実験 3. 初期線量の変化および分割間時間の間隔が短い時

3-1 1200R 20min 600R

3-2 1200R 180min 600R

3-3 600R 20min 1200R

3-4 600R 180min 1200R

3-5 1800R

体長21mm(同一卵塊)の個体, 各群50匹を用いた。飼育温度は室温24.5~33°Cである。線量率は300R/minで行なった。

実験結果

得られた生後曲線を第3図に示す。図示されて

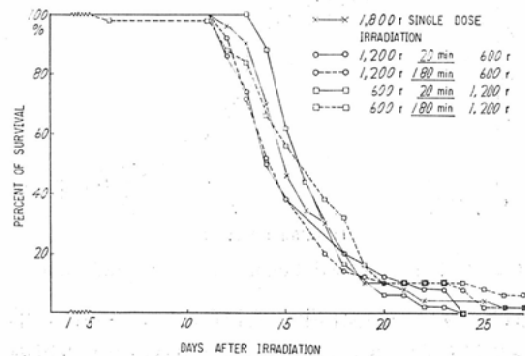


Fig. 3. Shortened time-interval in fractionated irradiation and change in initial dose.

いる如く, いずれの場合も単一照射の生残曲線とほとんど変わらず, Median survival time も15日前後に認められる。いずれもが実験1にみられたように照射後10日前後に生残曲線は下降を始め。そして, 観察した30日間には大部分が死亡する。この実験から(イ)分割間時間の時間間隔の違いによる差異, 及び(ロ)初期線量の大小による差異は本実験では認められない。この事は, 照射間の時間間隔が放射線照射によつての障害あるいは回復の効果が現われるのには余りにも短時間で

あつた為にむしろ、単一照射の効果と変わらないのであろう。この結果から、分割照射に対する時間要因はすくなくとも、この時間以上の間隔をもつて効果が期待される事がわかつた。

実験 4. 照射間の時間因子について

4-1	900R	12hr	900R
4-2	900R	24hr	900R
4-3	900R	48hr	900R
4-4	1800R		

同一卵塊より発生した体長21~23mmの個体を各群50匹ずつ用いた。飼育温度は室温25~32°Cで行なつた。

実験結果

第4図に示した。単一照射も、分割を行なつた群も、照射後10日頃から生存曲線が下降してゆく

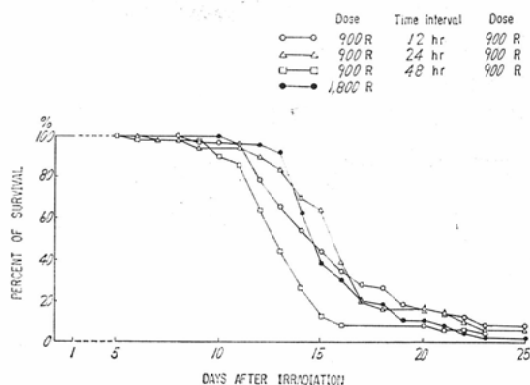


Fig. 4. Time interval factor effect on irradiation.

事は、今迄の実験結果と変わらない。さらに、単一照射も分割群も最終生存率は10パーセント以内となり、これに関しては分割の効果は認められないし、又、Median survival time についても、照射15日前後に単一照射群にも分割照射群に於ても認められ、*Rana nigromaculata* でみられた、分割により感受性が単一の時よりも高まるという曲線は得られず、むしろ、障害もしくは回復もみられない事がわかつた。唯、他の群との差をみるに(4-3)が致死率100パーセントに達した事が強いて言えば異なっているが、Median survival time に関しては変わらない。これは、体長21~23mm、個体で、照射時間因子を変えても大きな分割の効果が得られない事が示唆された。

実験 5. 体長12mmにおける分割効果及び冷却保存の効果

5-1	1200R			
5-2	600R	24hr	600R	
5-3	600R	C, 24hr	600R	
5-4	600R	12hr	600R	
5-5	600R	C, 12hr	600R	
5-6	400R	24hr	400R	24hr
	400R			
5-7	400R	C, 24hr	400R	C24hr
	400R			
5-8	400R	12hr	400R	12hr
	400R			
5-9	400R	C, 12hr	400R	C, 12hr
	400R			
5-10				OR (3日間冷却)

冷却は電気冷蔵庫で行ない{(11°C)に保持},照射時は室温で行なつた。冷却群以外は室温24.5~28°Cで飼育した。そして観察中の飼育温度は24.5~33°Cである。

実験結果

第5図に示した。第1図の結果からみると照射線量が当体長に対しては大きい、本実験では今迄の data とは異なつた生存曲線を得た。第1に、冷却保存(11°C)することにより、単一照射に近い曲線が得られる。第2に分割回数が多程、換言すれば1回照射線量が少ない程、分割の

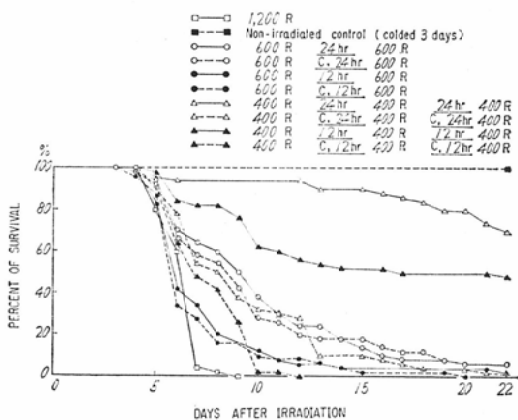


Fig. 5. Fractionated effect and cooling in time interval on the body length of 12mm.

効果がみられる〔(5-2)と(5-6)との比較〕, 第3に, 照射時間と照射時間との間隔が長い程, 分割の効果が現われ〔(5-2)と(5-4), (5-6)と(5-8)との比較〕, 第2と共に放射線障害が分割する事によつて減じている事が示され, 一般に, 哺乳類でみられる分割効果が認められた. 実験4において分割効果が顕著に示されなかつたのに反し, この実験で, 照射間の時間間隔, 及び分割数の差異で効果が示された事は, 用いた動物の体長の違いと照射線量が関与しているのかも知れぬ.

実験 6. Co^{60} source の γ -線による分割照射の効果

実験方法

Rana nigromaculate 幼生での分割照射の効果が分割の回数におけるよりも, 照射間の時間因子にその原因があると思われる事と, 発生中の動物に対しての放射線効果の出現に大きな要因のうち飼育温度がある. この飼育温度を一定にする事を考慮してコイトロン室にて飼育・観察を続けた. しかし, 飼育室の温度(20~23°C)は本動物の野外発生, 成育よりは低温である. 各個体群では, 非照射対照群の5匹を除いては他の群は全て25匹ずつ使用した. 同一卵塊から発生したものの中, 19~21mmの個体を無差別に選ぴ一群とした. 照射は Co^{60} source からの γ -線でその線量率は38.8 R/min で行ない, 線量1552R及び 776Rを照射し, 照射時, 動物は合成樹脂容器に虫体に水が浸っている程度で行なつた. 飼育条件は飼育温度を除いては今迄と同様である. 体重の測定を行ない, 照射前, 照射後5日, 10日, 15日, と5日目毎に照射後30日までに計量し, 記録した. 計量するについては, 一定容器に, 水分をガーゼでぬぐつた虫体を行ない, 照射前は全個体を計量し, 10匹の値を出し, それ以後は10匹を無作為に選ぴこれを計量した. 19~21mmでの γ -線における, この動物の LD_{50} の検討をみるために(6-6)の群を加えた.

6-1	1552R		
6-2	776R	6hr	776R
6-3	776R	12hr	776R

6-4	776R	24hr	776R
6-5	776R	48hr	776R
6-6	776R		
6-7	非照射対照群		0 R

実験結果

(体重) 第6図にこれを示した. (6-1) の単

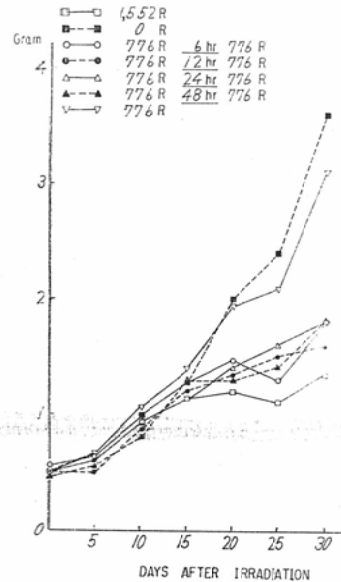


Fig. 6. Fractionated effect on γ -irradiation with Co^{60} source. Body weight response.

一照射のものでは同一線量分割群に比して, 体重の増加率が低いように思われるが, この差異が有意なものと言えるかどうかはわからない. 一方, 単一照射 776R 群では体重の増加が非照射群よりは低いが, これに近い曲線が得られ, 他の群とハッキリとした差異がみられ, 体重の増加に関して線量依存性がわかる. しかし, 何れもが, 当条件下で照射後15日までほぼ同じ率で体重の増加がみられるが, この日を境に障害が明きらかに示される事は, 室温で飼育した時, 生残率で照射後10日前後に下降しはじめる事と何らかの関連があると思う. それ故に, 体重に関して言える事は 1) 放射障害が線量依存性である事 2) 分割間の時間因子が余り大きな要因とはなっていない事だが, 単一照射に対して増加がややよいようであるから, 分割の効果は幾分たりとも障害を軽減する方向にある事が示唆される.

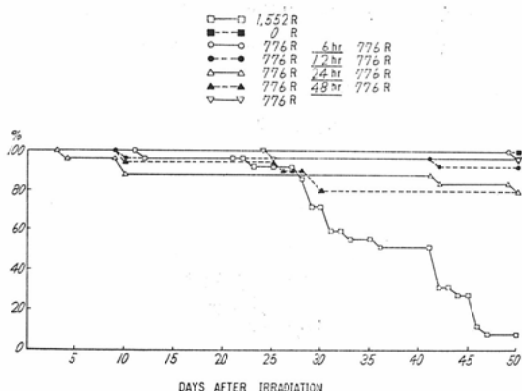


Fig. 7. Eracted effect on γ -irradiation with Co^{60} source. Survival response.

(死亡率) 第7図にこれを示した。照射と照射間の時間因子に関してX線での実験をこのシリーズの4で行なっているが、本実験ではそれとは違った結果を得た。飼育温度が自然での成長時に比し低い為、その得た致死曲線は今のそれにくらべておきて発現している。単一照射群では照射後50日で7パーセント位の生存率を得た。この事は *Rana nigromaculata* でみられた。また、照射と照射との間の時間が長い程、死亡率がわずかも増加している。先の体重の変化に比較して、単一と分割の効果が明きらかに示されている。勿論、非照射個体群は1個も死亡したものはなかった。

総括並びに考察

現在までに、無尾両生類幼生に対する放射線障害を研究した仕事は数多くみられるが、発生途次にあり、分裂、分化の行われているこれら幼生に分割照射を試みた実験はほとんどみられない。分割照射の効果に関して文献を考察すれば次の如くである。

1964年に White³⁾は魚類、Fundulus の胚を用い、2~16細胞の胚に 100~2000R/day で6日間に亘って分割照射し、その生存率、孵化率等をしらべたが、放射線障害は与えた総線量に依存する事を示した。一方、哺乳類を用いた分割の研究は非常に多くの業績がみられる。54~1100 Rads/min の線量率で1分~15分照射したマウスでは $\text{LD}_{50/30}$ の減少は2~3パーセント以上にはなら

ないし、一定時間内(6~36時間内)で分割したものとして連続して照射したもので $\text{LD}_{50/30}$ の有意な増加がない事を Brown et al⁴⁾ が示しているが、この事は本実験の両生類幼生での 300R/min 及び75R/minの線量率で照射した結果に於ても認められる。又、Moos 等⁵⁾ はX線と電子線を用いて、50R~250R/day の線量率にてラットに毎日分割照射し、その体重の変化を観察したところ 250R/day と 150R/day 群に於ては体重減少率は同じであり、放射線の種類をことにしても、被照射体の体重減少には差が認められなかった。詳細な検討が望ましいが、本実験に於ても、条件が違ふ為にその差を明確にし得ないが、X線を用いた実験5および γ 線照射による実験6の結果と同様に回復をみている。Bernard 等はブタを材料として、初期に 360~610Rの γ 線を照射し、照射後90日間の回復期間を置いて、その後死ぬ迄 50R/day で毎日分割照射を行なつて、その生存時間を指標として、その回復を見ているが、回復は初期線量の大きさに関係する事を示している。又、回復のパターンを示した Storer⁷⁾ は RF/J マウスに 100~650RのX線を照射して latent damage の回復の Fraction は線量の増加と共に漸進的に減少してゆく、この事は回復のパターンが簡単な指数函数となるといい、更に、Kohn 等⁸⁾ はマウスを用いて致死率を指標とした時、マウスの系統の違いにより LD_{50} の線量が違う事から遺伝的な要因も関与してくる事を示唆した。

分割の効果については必ずしも回復するのみの研究結果ばかりではないが、一般に分割照射をすることによつて、分割間の時間間隔の間に放射線障害を受けた細胞、組織における回復がある事や、頻回の照射によつて組織や細胞に抵抗性が誘起されるという事が通念となつている。

著者の用いた *Rhacophorus schlegelii arborea* の幼生に於ての分割照射の効果も、照射時の体長、飼育温度等により幾分かの差異はみられるが、全体としては放射線障害を軽減する傾向がみられた。実験2で線量率をかえて同一線量を照射しても、その放射線障害には変化のない事がみられた。さらに、実験3で初期線量の大小も照射間

の時間が短かければ(20と180分)分割の効果は期待したい。この事は放射線障害を受けた組織等の回復が、此の位の短時間では無視されることを示しており、単一照射と変わらない。又、実験5における冷却の実験で、初期照射と2回目の照射との間を冷却する一即ち代謝等を遅延させると一単一照射の効果により近づく事が示されている。実験4では分割の効果がみられなかったが、実験5及び6では分割間の時間間隔及び分割回数にも関与した分割効果が示されている。このことは、分割間の時間における生体の放射線障害からの回復が示されたのであろう。この回復が始めに意図した照射間の時間因子あるいは分割回数とどのような関係にあるのかは今後に残された研究課題である。

結 論

1. *Rhacophorus schlegelii arborea* 幼生での放射線分割効果は、体長、飼育温度等条件によつて幾分の差があるが、放射線障害を軽減する傾向がある。

2. 線量率、短い照射間の時間間隔(20と180分)及びその時の初期線量の大小によつては分割の効果はみられない。

3. 得られた分割効果には照射時間の時間間隔(6~48時間)及び分割回数(2~3回)にも関与しているが、その相互関係は今後に残された。

4. 実験4と6から、わずかの体長の差異で分割効果の異なりは、飼育温度にも関係する可能性がある事を示差している。

5. *Rana nigromaculata* との分割効果の差異は種の違い、そしてそれに伴う生理、発生、生態的な要因が関与するものと思われる。

稿を終えるに際し、生物学教室小野嘉三郎教授、放射線科教授金田弘先生の御指導を深く感謝致します。本論文を多忙中に校正して頂いた岐阜県立病院放射線科奥考行博士に深く感謝致します。実験中、種々批判して下さい、材料を提供して下さいた生物学教室高本薫講師に感謝致します。

更に、γ線照射、コイトロン室使用に際し、何かと御協力頂いた放射線科医局の人々に感謝致します。

文 献

- 1) 田中紀元：日医放会誌. 26. (1966). 56—59.
- 2) 藤原正武：動物学雑誌. 59 (10) (1950). 17—20. : 動物学雑誌. 60 (3) (1951). 16—20.
- 3) White, Jr. J.C.: INT J Radiat Biol. 8 (1) (1965), 85—91.
- 4) Brown, J.A.H. et al.: INT J Radiat Biol. 5 (4), (1962), 369—377.
- 5) Moos, W.S. et al.: Atompraxis. 7 (5), (1961), 184—186.
- 6) Bernard, F. et al.: Radiat Res. 11 (3), (1959), 326—342.
- 7) Storer, J.B.: Radiat Res. 14 (2), (1961), 206—212.
- 8) Henry, Kohn, I. and Robert Kallman, F.: Radiat Res. 5 (4), (1956), 309—317.