



Title	妊娠マウスのガンマ線照射による胎児指趾異常の発生： とくに、その指趾異常成立の臨界期について
Author(s)	上田, 慶子; 吉沢, 康雄
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1971, 31(8), p. 964-970
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/20526
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

妊娠マウスのガンマ線照射による胎児の指趾異常の発生

— とくに、その指趾異常成立の臨界期について —

東京大学医学部放射線健康管理学教室

上 田 慶 子, 吉 沢 康 雄

(昭和46年7月20日受付)

Critical Period of Malformation of Digits in Mouse Fetus caused by γ -ray
Irradiation during Pregnancy

by

Keiko Ueda, Yasuo Yoshizawa

Department of Radiological Health, Faculty of Medicine, University of Tokyo, Hongo, Tokyo, Japan

Research Code No.: 405

Key Words: Digit Malformation, Pregnancy, Fetus, Critical period

In the previous paper, the authors reported on the development of the digital malformations in the mouse fetus caused by γ -irradiation and suggested the usefulness of the radiation effect as a biological indicator. The dose rate dependency was attracted much attention in the previous report.

The present study was designed to obtain more detailed informations about the critical period of the digital malformations.

The experimental animals used were the mice of ddY strain, 70 days old. After keeping for a week, the esterus mice were kept with males in cages overnight and next morning those found with vaginal plugs were considered to be on day zero of pregnancy. The pregnant mice were exposed to the gamma ray of cesium-137. Total exposure dose was 200 R, and dose rate 3.3 R/min.. The mice were divided according to starting time of irradiation into 5 groups. Irradiation started at 4:00 a.m., 9:00 a.m., 2:00 p.m., 7:00 p.m. and 0:00 a.m. on the 11th day of pregnancy, and were continued for one hour.

On the 18th day of pregnancy, the fetuses were removed from sacrificed mothers, and were observed digital malformations (Ectrodactylism, Brachydactylism, Polydactylism and Syndactylism) and body weight.

The following results were obtained:

1. The critical period for the digital malformations was found to be at 9:00 a.m. on the 11th day of pregnancy. The time was estimated at about 273 hours after mating.
2. The appearance rate of the digital malformations reached to about 100 per cent by exposure to 200R.
3. The critical period of the abnormal development of forelimbs appeared earlier than hindlimbs and continued longer.

1. 緒 言

動物の発生過程におよぼす放射線影響は、放射線生物学の研究課題の1つである。とくに、異常児（異常仔）の発生、すなわち催奇効果に関しては数多くの研究がある³⁾⁶⁾⁷⁾¹²⁾¹⁴⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾²⁰⁾²³⁾。しかし、その多くは、個体発生研究の手段として放射線に注目し、それを利用したものが多い。

放射線影響という面から、これを眺めたものとしては、国連関係を中心とする2, 3の作業がある¹⁰⁾¹⁹⁾。また、これらの研究成果が国際放射線防護委員会勧告¹¹⁾として採用されていることは特筆に値することである。

著者らは、マウスを用いて、放射線の催奇効果を、放射線影響の生物学的指標という観点から検討しており、線量率依存性を中心とした研究成果についてはすでに報告した²²⁾。著者らは、現在のところ、指標を指趾異常にしばっている。前報において、その臨界期についても若干の報告をしたが、その後、放射線による指趾異常成立の臨界期について実験を追加し、より明確な知見を得たので、本報においては、臨界期の問題を中心として報告する。

前報の実験では、ddY系ハツカネズミの胎令8日から13日において、24時間間隔で放射線を照射し、指趾異常発生の臨界期が胎令11日目であると結論を得た。本報の実験では、胎令11日目を中心に5時間間隔で放射線を照射し、臨界期について、さらに詳細な検討を加えると共に、発生する異常の内容についても考察を行なった。

2. 研究方法

生後10週令（70±2日令）の成熟未経産 ddY系ハツカネズミ（日本生物材料センター産）を購入後、1週間予備飼育した。その後、雄1匹に、発情期の雌1ないし2匹を午後5時から翌朝9時まで配し、膣栓（Vaginal plug）の認められた日を妊娠0日として胎令を起算した⁸⁾¹⁵⁾。

γ線照射に際しては、妊娠マウスを塩化ビニール製照射ケージに入れ、東京大学生物用照射装置（¹³⁷Cs 線源4000Ci）を用いて全身照射を行なった。照射線量は200R、線量率は3.3R/min.、線

源被射体間距離は210cmであつた。照射は、妊娠11日目の午前4時、午前9時、午後2時、午後7時および0時から開始し、照射時間は1時間であつた。交尾の時刻が不明であり、かつ個体差があると予想されるので、時間単位で妊娠成立後の経過時間を示すことは出来ないが、交尾は午後10時から午前1時の間に¹³⁾、また、午前0時から3時の間に²¹⁾、行なわれることが多いという報告もあるので、今、仮に0時を妊娠の起点とすると、上記の照射時刻は、妊娠後268, 273, 278, 283, 288時間ということになる。

胎令18日目に母マウスを開腹し、胎児を取り出して、体重測定後、Dawson法による骨染色¹⁾⁸⁾を行なった。

研究方法の詳細は、前報で述べた方法と同じである。指趾異常は、実体顕微鏡下で観察した。本実験の結果は、異常率（Abnormality）をもつて表わした。ここでいう異常胎児とは、欠指（趾）Ectrodactylism, 多指（趾）Polydactylism, 短指（趾）Brachydactylism, および癒合 Syndactylism が認められたものをいう。

3. 実験成績および考察

実験結果の概要を表1に示す。前報の胎令11日目（午後2時）照射群においては、指趾異常発生率は73.4%であつたが、これより5時間早く、午前9時照射群では97.6%を示した。この結果は、指趾発生におよぼす放射線感受性の高い時期が、発生学的に、きわめて短時間にあることを示している。指趾異常の発生に関しては、本実験で用いたddY系以外で行なった結果でも、胎令11日目に異常発生の臨界期が認められていることが報告されている⁵⁾⁹⁾。また、照射線量と指趾異常発生率との関係、すなわち線量-効果関係について、前報では、ほぼ100%に異常が出現する線量は、胎令11日、午後2時の照射で、250Rであることを示したが、照射時間を、より細かく分けた今回の実験では、200R照射でも、ほぼ100%に異常が認められた。この事実は、指趾異常発生の限界線量が、前報の推定値（75Rから100R）よりも若干、低くなる可能性を示唆している。

Table 1. Malformations of the Digits caused by 200R γ -ray Irradiation at Different Stages of Pregnancy

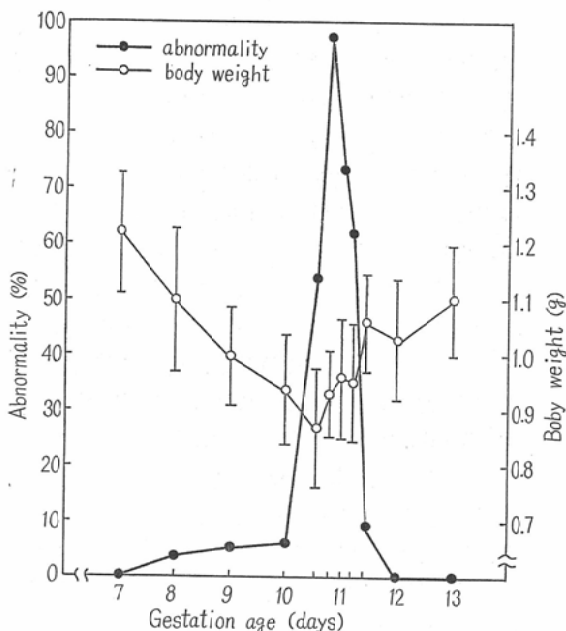
Gestation age(day)	Exposure starting time	No. of mice treated	Total No. of fetuses	Mean litter size	Fetal deaths (%)	Fetuses examined	Fetus weight (g)	Malformations of the digits												
								Normal (%)	Abnormal (%) *											
									Total	No. of abnormal digits				Forlimb only	Hindlimb only	Forlimb and Hindlimb	Ecto.	Brachy.	Poly.	Syn.
										1	2	3	4							
7	2 : 00 p.m.	8	71	8.88±1.64	7 (9.9)	64	1.22±0.11	100.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
8	2 : 00 p.m.	5	29	5.80±1.92	1 (3.4)	28	1.10±0.13	96.4	3.6	3.6	0	0	0	0	3.6	0	0	0	3.6	
9	2 : 00 p.m.	5	42	8.40±1.52	4 (9.5)	38	1.00±0.09	94.7	5.3	5.3	0	0	0	0	5.3	0	0	0	5.3	
10	2 : 00 p.m.	11	90	8.18±2.14	4 (4.4)	86	0.94±0.10	94.2	5.8	4.7	1.2	0	0	2.3	3.5	0	0	1.9	2.9	
11	4 : 00 a.m.	13	125	9.62±2.90	12 (9.6)	113	0.87±0.11	46.0	54.0	16.8	24.8	8.9	3.5	38.9	1.8	13.3	7.8	36.8	3.1	
	9 : 00 a.m.	9	85	9.44±1.88	2 (2.4)	83	0.93±0.08	2.4	97.6	1.2	59.0	16.9	20.5	60.2	0	37.4	42.7	47.2	2.7	
	2 : 00 p.m.	15	129	8.60±1.68	5 (3.9)	124	0.97±0.11	26.6	73.4	4.0	41.1	7.3	21.0	61.7	0	38.3	43.8	48.4	2.8	
	7 : 00 p.m.	13	125	9.61±1.76	6 (4.8)	119	0.95±0.11	37.8	62.2	7.6	20.2	7.6	26.9	12.6	14.3	35.3	25.8	29.7	5.0	
12	0 : 00 a.m.	11	97	8.82±1.78	10 (10.3)	87	1.06±0.09	90.8	9.2	1.2	6.9	0	1.2	0	8.1	1.2	1.4	7.8	0	
	2 : 00 p.m.	12	105	8.75±1.82	2 (1.9)	103	1.03±0.11	100.0	0	0	0	0	0	0	0	87.5	12.5	15.0	85.0	
13	2 : 00 p.m.	10	89	8.90±1.91	4 (4.5)	85	1.10±0.10	100.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Total		112	987	—	—	930	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

* The number in the upper row shows abnormality. $\left(\frac{\text{Abnormal fetuses}}{\text{Total number of fetuses examined}} \right)$

The number in the lower row shows relative abnormality. $\left(\frac{\text{Number of fetuses with abnormality in question}}{\text{Total number of abnormal fetuses}} \right)$

より鋭敏な生物学的指標の検索が望まれるところであるが、指趾異常、すなわち欠指(趾)、短指(趾)、多指(趾)、癒合を指標とする限り、限界線量が、本研究結果が示した値より大巾に低下することはないであろう。しかしながら、限界線量が必ずしも、低くなくても、表われる現象が、その検出可能域で、検討の対象である要因の影響によって明らかな差を示すものであれば、生物学的指標としての目的に適うものであると考えてよいであろう。

前報と同じく、胎児の体重に及ぼす影響についても観察した。午前4時照射群が最小値を示し、 0.87 ± 0.11 gであつた。胎令(時間)が進むにしたがい、影響、すなわち体重減少が少なくなる。ここでの胎児の体重とは、取り出した時点、すなわち胎令18日目の体重である。なお、午後2時照射群と午後7時照射群の体重の間には有意差(危険率5%)は認められなかつた。



The experimental data of the previous study²²⁾ were included in this figure.

Fig. 1 Incidence of Malformation of the Digits caused by 200R γ -ray Irradiation during Pregnancy

図1には、照射した胎令(日)と指趾異常率および体重との関係を示した。前報に示したものと異なり、胎令11日目付近は、5時間間隔で照射している。指趾異常発生率と胎児の体重は、逆相関の関係にあるが、放射線の影響の臨界期は、後者がやや早い。両者の臨界期の相違の原因については明らかではないが、四肢異常に関しては、以下のようにいわれている。

催奇形作用を持つ物質のほとんどが、その発生頻度や、程度に差はあつても、四肢に奇形を生ずることが知られている。そして、作因の種類により奇形成立の臨界期がずれることが指摘されている。亀山ら⁴⁾によると、実験的短肢症の成立臨界期は、酸素欠乏では胎生第10日、X線、トリパン青では第11日、ビタミンA過剰投与では第11日から12日にある。そして、このことは、ハツカネズミ胚の発生段階と結びつけて、酸素欠乏では肢芽形成の前段階に作用して短肢を成立せしめ、X線、トリパン青では発生した肢芽を直接侵襲し、ビタミンA過剰投与ではX線同様、形成された肢芽を直接侵襲するのみでなく、次の段階の肢骨原基をも障害して短肢を成立せしめるのであろう、と推論している。短肢症に限らず、指趾欠損症、中枢神経系奇形、口蓋裂などもX線照射による催奇効果が、主として胚組織への直接作用による破壊の傷害によるものとみられている。このように、四肢異常の場合には、発生学にかなり意味付けされているが、体重減少の場合には、発生機序が明らかでないの、臨界期が認められる理由は、なお明らかではない。著者らは、前報において、胎児の体重が生物学的指標となりうることを指摘したが、本実験においても、この点を主張するに足る知見を得た。

次に、異常の量的および質的な差について、3点から考察する。

第1に、異常肢数を前後、左右、1肢から4肢に分けると、表1および図2に示すとおりである。縦軸の相対異常率(Relative abnormality)とは、その時に出現した異常全体を100%とした場合のそれぞれの出現の割合を示す。異常肢数からみると、2肢あるいは4肢の場合が大部分で、奇

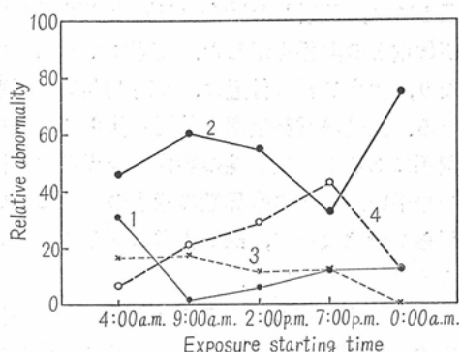


Fig. 2 Relationship between Number of Malformed Digits and Exposure Starting Time on 11th Day of Pregnancy

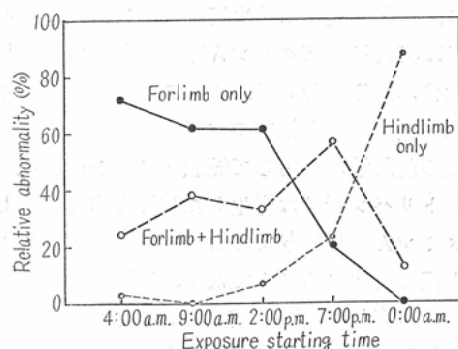


Fig. 3 Relationship between Location of Malformed Limb and Exposure Starting Time

数本の異常は稀である。4肢共異常を呈する胎児の割合は、午前4時照射から午後7時照射群まで、徐々に増加の傾向がある。この結果から考えると、量的な評価は困難であるが、午前9時、午後2時および午後7時照射群は、ほぼ同程度の異常を示すと思われる。

第2に、異常出現の部位について検討した。前肢のみ、後肢のみ、前肢後肢共、の3種に分類すると、表1および図3に示すとおりとなる午前・4時照射群から午後2時照射群までは、異常胎児全体の63%から72%が、前肢のみの異常胎児であるが、午後7時照射群では20%に減少し、0時照射群では、前肢のみの異常胎児はまったく見られなくなる。これに対し、後肢のみの異常胎児は、午後2時照射までは、ほとんどみられず、午後7時

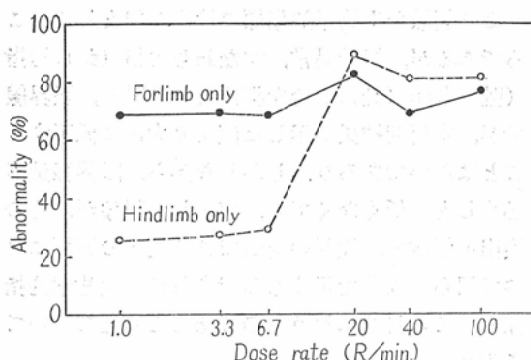


Fig. 4 Dose Rate Effects on the Digital Malformations Irradiated on the 11th Day of Pregnancy

照射群では23%、0時照射群では88%に増加する。すなわち、指趾の放射線感受性の高い時期は、発生学的に、前肢が後肢より早く、しかも、かつ長いと推測される。両者の臨界期の差が顕著である。このことは、指趾の発生段階と考え合せ、きわめて興味ある結果である。Grüneberg, H²¹によれば、肢芽発生の時期は、前肢が後肢より1日早く、胎令9日に出現し、胎令17日に前指、後趾が完全に形成されるまで常に、ほぼ、前肢の発達の後肢に先行する、という。

著者らは、この結果より、後趾のみの異常に注目したほうが、生物学的指標として利用するのに適当ではないかと考え、前回の線量率依存性について再検討を行なった。前回、観察した異常²²⁾を、前指、後趾に分けてみると、図4に示すとおりである。図4は、胎令11日目、午後2時に各線量率で、総線量 200 R照射した場合の線量率一効果関係である。前報において、1.0 R/min. から 6.7 R/min. の低線量率では約73%の異常率を、20 R/min. から 100 R/min. の高線量率では約90%の異常率を示すことを報告した。その結果を、前指、後趾に分けることにより、後趾では著しい線量率依存性が認められる。したがって、線量率依存性を検討する際には、後趾のみの異常を指標とする方が、より有効であると思われる。

第3に、指趾異常の形態、すなわち、欠指(趾)、短指(趾)、多指(趾)、癒合に分類すると、その結果は、表1および図5に示すとおりであ

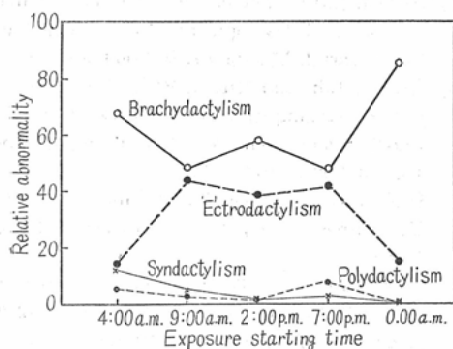


Fig. 5 Relationship between Type of Digital Malformations and Exposure Starting Time

る。なお、4種の異常は重複して現われることがあるので、この場合は、異常の全数に対する各々の割合を示している。胎令11日目全体を通じて、短指(趾)症の割合は、50%以上であるが、午前9時、午後2時および午後7時照射群では、欠指(趾)が約40%発生する。一般に、欠指(趾)症は、短指(趾)症の異常の程度が高いものと考えられるから、この点を考慮すれば、照射時期の差は、さらに著しくなると思われる。これは、先に述べた異常肢数の場合と考え合せると、午前9時、午後2時および午後7時照射群の指趾異常発生が顕著である。交尾を0時とし、その時間を妊娠日数算定の起点とすると、妊娠273時間、ないし238時間が、放射線照射による指趾異常発生の感受性をもつとも高いことになる。

以上、放射線の生物学的指標として、指趾異常発生率および、体重の変化の有用性を指摘した。

個体発生の生物学的機序については、かなりの知見が得られているが、マウス、その他、高等動物の発生、とくに器官形成に関する知識は不十分である。したがって、放射線影響の生物学的指標として見た場合、単細胞あるいは組織を対象とする際と異り、影響の解析には幾多の困難を伴う。したがって、現在においては、もつぱら現象の正確な把握につとめる段階であるが、最終的には人体の問題を目標とする放射線影響研究の歴史的一段階の研究指標としては、他に見られない利点を持つていえる。

4. 結 論

(1) ddY系ハツカネズミ胎児の ^{137}Cs γ線照射による指趾異常成立の臨界期が、胎令11日、午前9時(妊娠後推定時間273時間)に認められた。

(2) 照射線量200Rで、ほぼ100%指趾異常が出現した。

(3) 前指の異常発生の臨界期は、後趾より早く出現し、しかも、かつ、その感受性の高い時期が長い。

(4) 後趾の異常の出現には、線量率依存性が認められた。

(5) 以上の結果を中心として、放射線影響の生物学的指標としての、胎児の指趾異常発生率、および体重変化の有用性について考察を加えた。

稿を終るにあたり、研究実施面で多大な御協力を惜しまれなかった教室同窓の諸兄弟に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) Dawson, A.B.: A note on the staining of the skeleton on cleared specimens with alizarin red S., *Stain Technol.* 1 (1926) 123—124.
- 2) Grüneberg, H.: The pathology of development; a study of inherited skeletal disorders in animals. Blackwell Scientific Publications, Oxford, (1963)
- 3) Hicks, S.P.: Regeneration and malformation in the nervous system, eye and mesenchyme of the mammalian embryo after radiation injury. *Amer. J. Path.* 33 (1957) 459—481.
- 4) 亀山義郎, 野上 宏, 村上氏広: 短肢症の実験的成立について, *先天異常* 4 (1) (1964). 5—12.
- 5) Murakami, U., Kameyama, Y. and Nogami, H.: Malformation of the extremity in the mouse fetus caused by X-radiation of the mother during pregnancy. *J. Embryol. expl. Morph.* 11 (1963) 549—569.
- 6) Murakami, U.: Studies on mechanisms manifesting congenital anomalies. *The Japanese Journal of Human Genetics*. 8(3) (1963) 202—226.
- 7) Murakami, U.: Effects of X-irradiation with relation to abnormal morphogenesis. *Congenital Anomalies*. 8 (1968) 147—162.
- 8) 村上氏広他: 出生前の医学—先天異常の基礎と臨床—医学書院 (1968),

- 9) Nogami, H.: Digital malformations in the mouse fetus caused by X-radiation during pregnancy. *J. Embryol. exp. Morph.* 11 (1963) 549—569.
- 10) Recommendations of the International Commission on Radiological Protection, ICRP Publication 8. Report of Committee I on The Evaluation of Risks from Radiation. (1965)
- 11) Recommendations of the International Commission on Radiological Protection, ICRP Publication 9. (1966)
- 12) Rugh, R.: Histological effects on the embryo following X-radiation. *J. Morph.* 85 (1949) 483—501.
- 13) Rugh, R.: Vertebrate embryology, Harcourt Brace & World, New York, (1964)
- 14) Rugh, R.: Prenatal X-irradiation and post-natal motility. *Radiation Research* 26 (1965) 493—506.
- 15) Rugh, R.: The mouse, its reproduction and development. Burgess Publishing Company, Minneapolis (1967)
- 16) Rugh, R.: Radiobiology. Annual Report on Research Project Radiation Physics, Biophysics and Radiation Biology, January 1, (1969)
- 17) Russell, L.B.: The effects radiation mammalian prenatal development. *Radiation Biology* Vol. 1 Part 2, McGraw-Hill, London (1954)
- 18) Russell, L.B. and Russel, W.L.: An analysis of the changing radiation response of the developing mouse embryo. *J. Cell comp. Physiol.* 43 (1954) 103—149.
- 19) Second Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation (1962)
- 20) Smithberg, M.: Teratogenesis in inbred strains of mice. *Advances in Teratology* Vol 2, Academic press, London. (1967)
- 21) Snell, G.D., Hummel, K.P. and Abelmann, W.H.: A technique for the artificial insemination of mice. *Anat. Rec.* 90 (1940) 243—253.
- 22) 上田 慶子, 吉沢 康雄: 妊娠マウスのガンマ線照射による胎児の指趾異常の発生—とくに, その線量率依存性について—*日医放学誌* 30 (11) (1971). 7—15.
- 23) Wilson, J.G. and Karr, J.W.: Effects of irradiation on embryonic development. *Am. J. Anat.* 88 (1951) 1—34.