

精子におよぼす放射線の影響

牛精子の生存率におよぼす γ 線照射の影響(その2)

田中亮一・飯田 剛・武田継之助

柏原孝夫・柏原久二*

The Effect of Radiation on the Spermatozoa

On the viability of bovine spermatozoa by γ -ray irradiation (II)

RYOICHI TANAKA, KO IIDA, KEINOSUKE TAKEDA,

TAKAO KASHIWABARA and HISAJI KASHIWABARA

I. 緒 言

精子に対する放射線の直接の影響, すなわち精子の運動代謝および核物質におよぼす高エネルギーのX線および γ 線の影響は放射線障害やその遺伝的影響が種々調べられている割に, あまり実験されていない。前報¹⁾において低線量(X線 300~1 $\times 10^4$ r)では照射後の牛の精子生存率に品種間において差が認められ, 高線量(γ 線 1 $\times 10^4$ ~30 $\times 10^4$ r)では30 $\times 10^4$ r照射により照射直後の生存率に著しい低下が観察され, また保存試験では照射線量が増加するにしたがって生存時間の短縮が認められることを報告した。しかし前報の試験では最大照射量の30 $\times 10^4$ r照射に180分の時間を要し, 精子が保存温度(4~5°C)より高温(室温 10°C)に曝らされるため, 精子の休眠状態が破れ, 精子の生存時間を比較することに問題があった。したがって今回は照射中の温度上昇による精子運動の促進とその生存率低下を防ぐため, 低温(4~5°C)に保存しながら照射を可能とする特製魔法瓶を用い, また短時間に大量照射の可能なCo-60 γ 線を利用して牛精子の生存性におよぼす γ 線量の影響を調べた。精子の生存性は運動と呼吸の両者を比較して論ぜられるべきであるが, 本報では運動性のみにつき報告する。

II. 実験材料および方法

材料は茨城県畜産試験場繁養の黒毛和種の精液(人工授精用保存液セミンで希釈した市販用保存精液アンプ

ル封入)を用い, γ 線は放射線高分子化学研究所東京研究所の1,000 C Co-60 γ 線発生装置を使用した。照射条件は第1表に示す。牛精液は照射前日に採取され, 照射後は直ちに農学部持ち帰りBlom法を用いて生存率の測定を実施した。照射後の第1回の測定は運搬に要する時間その他を考慮して, 照射後6時間に統一した。また試験番号4は保存試験も行なったが, 精液採取より試験終了までの間, 精液は砕氷を入れた魔法瓶内で4~5°Cに保存した。照射には高さ約16 cm, 外径2.5 cm,

第1表 照射条件(1000 curie)

試験番号	線量率	時間	照射量
4	33 $\times 10^4$ r/h	9分	5 $\times 10^4$ r
	〃	18	10 〃
	〃	54	30 〃
	〃	90	50 〃
	〃	180	100 〃
5	5 〃	12	1 〃
	16 〃	38	10 〃
	〃	75	20 〃
6	4 〃	15	1 〃
	〃	75	5 〃
	15 〃	40	10 〃
	〃	80	20 〃
7	15 〃	20	5 〃
	〃	40	10 〃
	16 〃	75	20 〃
	〃	112	30 〃

* 北大工学部

内径 1.5 cm の特製魔法瓶を用意し、砕氷を入れ、できるだけ 4~5°C になるように留意しながら照射した。しかし長時間照射の場合には氷が融解して温度が約 10°C に上昇したのも認められた。

III. 実験成績および考察

1) 照射後6時間における生存率

照射後6時間における生存率を第2表に示す。体外精子すなわち射出精液に対する放射線照射の影響に関しては、牛精液については見当らぬが、Rugh²⁾ (蛙), (Johansson³⁾ (鶏), Amoroso⁴⁾ 等 (兔) および Chang⁵⁾ 等 (兔) の報告がある。これらの報告はいずれも放射線照射した精液を人工授精することにより、精液に対する放射線照射量と受胎率および発生異常との関係を観察しているのみで、精子自体の放射線照射による生理学的影響については調べられていない。したがって照射量も少なく 1×10⁴ r (Amoroso) が最高量である。本試験では放射線照射により照射後6時間において精子が運動を停止する線量を求めるため短時間大量照射を実施した。その結果試験番号4では 5×10⁴ r 照射, 試験番号7では 30×10⁴ r 照射で、それぞれ照射後6時間において運動停

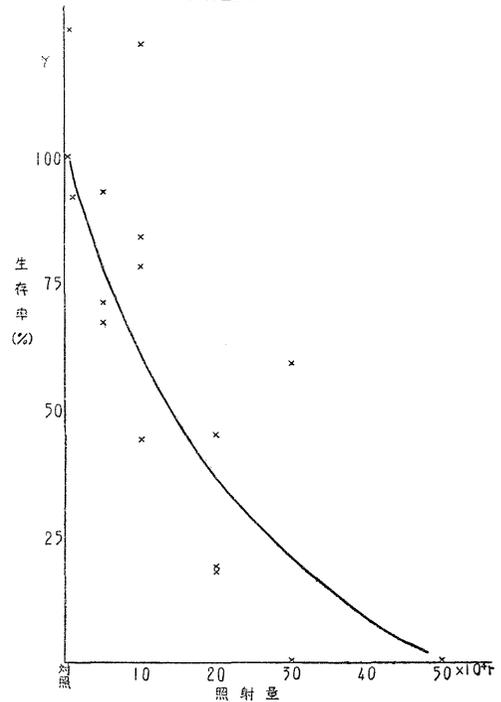
止が認められた。しかし試験番号7では対照区の生存率が 57.0% であり、精液性状がやや不良とみられ、また前報の試験番号3でも 30×10⁴ r 照射で運動停止がみられなかったことより、照射後6時間における運動停止の線量は少なくとも 30×10⁴ r 以上で、50×10⁴ r 付近と推定される。しかし試験番号4における 50×10⁴ r 照射の場合も照射時間に 90 分を要しているため照射終了直後、照射用特製魔法瓶内の氷も融解しており、10°C 前後に温度上昇し、精子の運動が開始し、生存率低下が起きていたとも考えられる。しかしながら精子の運動停止に要する線量は例数も少ないので断定はできないが 50×10⁴ r 付近であると推定される。ここに精子の消耗を完全に除去するため、ごく短時間で大量照射の可能なエネルギーの大きいγ線源による照射の必要が認められた。その他の線量については精液性状の不良であった試験番号7号を除き前報と類似の結果を得た。なお、照射線量と精子の生存率の関係を、照射後6時間について図示すると第1図の如くなる。例数が少ないので詳細は次

第2表 照射後6時間における生存率

試験番号	照射量	生存率	指数*
4	対 照	78.4	100
	5×10 ⁴ r	52.3	67
	10 "	65.5	84
	30 "	46.4	59
	50 "	0	0
	100 "	0	0
5	対 照	48.1	100
	1×10 ⁴ r	44.3	92
	10 "	58.6	122
	20 "	9.2	19
6	対 照	65.7	100
	1×10 ⁴ r	82.1	125
	5 "	60.8	93
	10 "	50.9	78
	20 "	29.8	45
7	対 照	57.0	100
	5×10 ⁴ r	40.2	71
	10 "	25.2	44
	20 "	10.3	18
	30 "	0	0

* 各試験の対照を 100 とした指数

第1図 照射後6時間における生存率と照射量との関係



報に譲るが、照射線量と生存率との間には指数函数 (Hollaender) で表わされる関係が認められた。

2) 保存試験

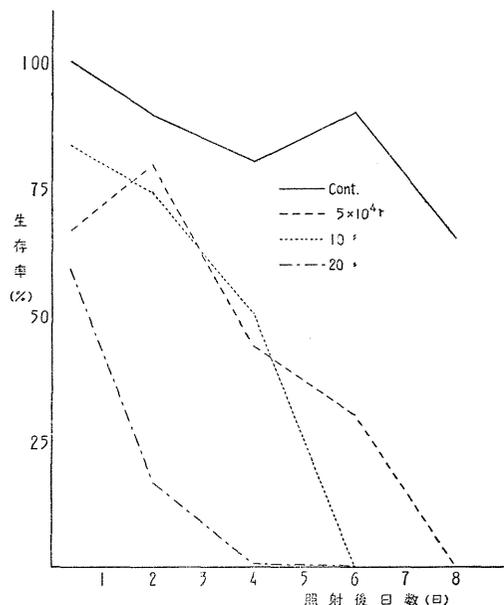
試験番号4においては保存試験も併せて実施した。そ

第3表 試験4における保存試験

照射量	照射後日数									
	6時間		2日		4日		6日		8日	
	生存率	指数*	生存率	指数*	生存率	指数*	生存率	指数*	生存率	指数*
対照	78.4	100	70.1	89	62.8	80	71.1	91	51.0	65
5×10 ⁴ r	52.3	67	62.4	80	34.4	44	23.7	30	0	0
10 "	65.5	84	58.3	74	39.6	51	0	0	0	0
30 "	46.4	59	13.0	17	0.5	1	0	0	0	0
50 "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100 "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

* 照射後6時間における対照の生存率を100とした指数

第2図 試験4の保存試験における生存率曲線



の結果を第3表および第2図に示す。本試験に用いた精液は対照区の8日目において51%の生存率がみられ、使用した精液の性状は比較的良好であることが認められたが、照射区は照射量の最も少ない5×10⁴r照射区においても4日目より急激に生存率が低下し、8日目では完全に運動停止し、また照射量が増加するにしたがって生存率が悪くなり前報と同様の結果を得た。前報で試験番号3の5×10⁴r照射区の線量率が10×10⁴r/h(照射時間30分)であるのに対し試験番号4では33×10⁴r/h(照射時間9分)であり単位時間内の照射量に大きな相異があり、この線量率の差が生存率に如何なる影響を与えたかについてはMilovanovの生存指数⁹⁾により比較検討してみた。その結果は第4表にみられる如く、対

第4表 試験4におけるMilovanovの生存指数

照射量	生存指数	指数
対照	14.357	100
5×10 ⁴ r	7.196	50
10 "	6.468	45
30 "	1.901	13

照区の生存指数は8日目まで14,357で、前報における試験番号2(8日目13,293)および試験番号3(褐毛和種は12日目まで19,241、黒毛和種は12日目まで26,677)と比較して前述の通り普通の精液性状であったと考えられる。しかし試験番号3と試験番号4の両者間で5×10⁴r照射区について、対照区の生存指数を100とした指数で比較するとき、試験番号3では78(褐毛)、および55(黒毛)であるのに対して試験番号4では50であり、生存指数間に差がみられ線量率により生存率に相異があるものと思われる。Glücksman⁷⁾等も蟬蚌にX線照射するとき、脳および眼の細胞の退化変性が、線量率によって異なり、高い線量率の場合最も影響の大きいことを報告しているが、本試験は例数が少ないので傾向が想像されるに過ぎないが、線量率の高い試験番号4の方が精子に対して悪影響あったものと思われる。

IV. 要約

照射用特製魔法瓶を用い、1,000 C Co-60γ線発生装置を使用して牛精液にγ線照射を実施し、生存率を測定し次の結果を得た。

- 1) 照射後6時間における精子の運動停止に必要な照射線量は50×10⁴r位であると推定された。
- 2) 保存試験においては線量率により差が認められ、同じ5×10⁴r照射の場合、10×10⁴r/hより33×10⁴r/hの方が精子保存性に対し悪影響あるものと

思われた。
謝 本研究に当り、精液を提供された茨城県畜産試験場ならびに照射の便宜を与えられた放射線高分子化学研究所東京研究所長に対し謝意を表す。

文 献

1) 田中・飯田・武田・柏原：茨大農學術報告 9, 79 (1961)
2) Rugh, R. : Proc. Am. Phil. Soc. 81, 447 (1939)

3) Johansson, K. I. : Acta Agric. Suecana 1, 335 (1946)
4) Amoroso, E. C. and A. S. Parkees : Proc. Roy. Soc., B. 134, 57 (1947)
5) Chang, M. C., D. M. Hunt & E. B. Romanoff : Ant. Rec. 192, 211 (1957)
6) 西川：家畜人工授精法 養賢堂 (1956)
7) Glücksmann, A., K. Tansley and C. W. Wilson : Brit. J. Radiology 18, 158 (1945)

Summary

The biological effects of ionizing radiation on the bull spermatozoa are still not fully understood. In the present experiment the dose-effect of γ -irradiation on the bull semen (dilute suspension) were studied. A 1,000-curie cobalt-60 γ ray irradiation was prepared for the irradiation with a single dosage ranging from 1×10^4 r to 1×10^6 r. Glass ampule which contained the semen suspension were put into a special vacuum flask of about high 16 cm and dia. 2.5 cm and cooled with crushed ice (preserved temperature: $4 \sim 5^\circ\text{C}$). The viability of spermatozoa was measured by Blom method.

The results obtained were summarized as follows :

- 1) It was assumed that the dosage which was ceased the movement of spermatozoa 6 hours after irradiation is about 50×10^4 r. The dosage survival curve of irradiated bull spermatozoa was similar to hyperbola curve.
- 2) At the preservation test of irradiated semen, longevity of spermatozoa was affected by dosage rate, namely the longevity was retarded by high dosage rate than low dosage rate.