

# ショウジョウバエ精巣に対する放射線の影響

柏原孝夫

哺乳動物の放射線生物学的研究に対する供試材料としての精巣の価値は Albers-Schönberg(1903)が、X線照射した家兎および天竺ネズミの雄に不妊症の誘発を発見して以来、今日まで多数の形態遺伝学的研究成果に示されるように、それは放射線生物学のバックボーンとなった。すなわち Bergonié & Tribondeau(1905)<sup>1)</sup>, Hertwig(1911)<sup>2)</sup>, Hertwig(1920)<sup>3)</sup>, Schinz & Slotopolsky(1945)<sup>4)</sup>, Regaud & Lacassagne(1927)<sup>5)</sup>, Wigoder(1929)<sup>6)</sup>, Asdell & Warren(1931)<sup>7)</sup>, Snell(1933)<sup>8)</sup>, Nakaizumi et al(1937)<sup>9)</sup>, Hertwig(1938)<sup>10)</sup>, Snell<sup>11)</sup>, von Wattenwill & Joël(1941)<sup>12)</sup>, Bloom(1937, 1941)<sup>13)</sup>, Eshenbrenner & Miller(1950)<sup>14)</sup>, Fogg & Cowing(1951)<sup>15)</sup>, Shaver(1953)<sup>16)</sup>, 柏原・近藤(1954・55)<sup>17)</sup>, Kohn & Kallman(1954)<sup>18)</sup>, Oakberg(1955)<sup>19)</sup>, Russel & Russell(1958)<sup>20)</sup>等によれば、実験動物家兎、ラット、マウス等の放射線照射による精子発生攪乱機構は、未分化の精粗細胞 spermatogonia がイオン化放射線に対し最も感受性高く、精子形成の進む過程で、その放射線感受性が順次低下し、成熟精子は放射線抵抗性を示し、交尾慾にも影響少く、精子発生の過程のみが放射線に対し、選択的に影響される。放射線障害を受けた精粗細胞の機能再生する時は、受胎力も回復する。すなわち「哺乳類組織の放射性感受性は、組織における未分化細胞の数、組織における細胞分裂活動の程度、および活発な組織細胞の増殖過程にある時間の長さなどに影響される」という Bergonié & Tribondeau の法則(1905)<sup>1)</sup>が実に、X線被爆精巣 Röntgenhoden より生れ、放射線学 Radiology の基本概念となり今日に到っている。細胞増殖の活力は、ごく初期の未分化の細胞と、分化の進

んだ最終の成熟細胞との間に介在する分裂細胞の数量で推定されるが、マウス・ラットなどの精巣における分裂組織は、本問題解明に好都合な材料である。

一方放射線遺伝学の基礎に最も貢献したショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* は人為突然変異の研究によく使われても、精巣の放射線被爆反応に関しては僅かの研究しか見られぬ[Friesen(1937)<sup>21)</sup>, Fritz-Niggli(1956)<sup>22)</sup>, Welshons & Russell(1957)<sup>23)</sup>]。それはドロソフィラの精巣が組織学的または細胞学的研究に不便なためである<sup>24)</sup>。しかるに柏原・近藤(1954~55)<sup>17)</sup>および Kohn & Kallman(1954)<sup>18)</sup>により「マウスなどの精巣重量の変化がX線障害の生物学的指標となり得ること」が証明されて以来、放射線の生物学的線量測定 Biodosimetry に精巣の利用が可能となった。此处に Spermatogenesis の放射線感受性を精密に追究するのと異り、ドロソフィラ精巣の大いさ、および精細胞分布の変化などにつき、マクロの放射線影響を調べることも意味があると思われ本実験が行われた。それは実験動物マウス・ラット等に比べて、ドロソフィラの生活環が短く、飼育管理も容易なため、放射線影響の生物学的指標に利用出来る場合には、ドロソフィラの方がむしろ有利な場合も想定されたからである。

## 材料と実験方法

成熟ドロソフィラ雄の精巣に対するX線、 $\gamma$ 線および中性子 fastneutron の影響を、精巣の大いさに注目して観察した。エーテル麻酔のドロソフィラをリングル液に侵し、腹部切開で、精巣が採り出され(図1, 2)、直ちに位相差顕微鏡(千代田10×10)の下で、写真撮影された。得られたネガフィルムにより双眼解剖顕微鏡(×6)の下で、精巣の大いさ(最大径の長さ、および

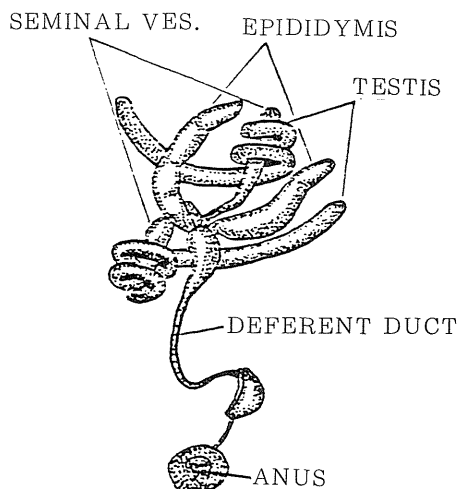


図1 ショウジョウバエ雄性生殖器官 (Demerec(1965):Biology of *Drosophila*<sup>24</sup>)を改写)

精巢側面積), 精細胞の量的分布(Spermatogenesisを3区に別けた)その他が記録され, また必要に応じて生の精巢を位相差の下で描写し, 精巢面積測定補助に使った。

ドロソフィラの供試系統はカリフォルニア大学パークレイ動物学教室Prof. Sternの*Drosophila*系統保存室に飼育されたCanton-S野生型である。実験区毎に孵化直後の雄ドロソフィラ200匹づつが用意され, 照射区と対照区に分けて, 夫々ケージに50匹づつ収容し, 供試した。ケージは中性子照射にも便利な, 放射活性化されないlucite tube(外径13mm, 長さ60mm, 筒壁長さ2.0mm)がAECより提供された。照射が終了した後, 筒のドロソフィラは直ちに新鮮な飼育瓶に移し, 30日間の観察に供せられた。この雄のみ飼育する瓶には, 雌雄同居さず繁殖瓶では見られぬ徴が, 飼育開始2週間目頃より発生すること多く, 30日間の飼育観察に対し, 同一条件が維持されるとは限らぬように思われた。すなわち徴の発生防止が本実験には重要であり, 細菌培養と同じ感覚が蠅の出し入れその他に大切であった。蠅は照射後1日目, 3日目~数日の間隔で, 30日間計13回瓶より採り出され, 精巢の形態的変化が経時的

に追究された。

放射線照射装置はすべてBerkeleyのLawrence Radiation Laboratoryのものである。各実験共総照射線量は4000Rに統一した。本実験でショウジョウバエ被爆線量を4000Rに設定した理由は, ドロソフィラを含む昆虫に対するLD<sub>50</sub>が哺乳類の100倍以上と計算されていて, *Drosophila melanogaster*成虫は64,000R( $\gamma$ 線<sup>60</sup>Co)被爆に対し不妊は起きても, 生命には影響ない<sup>26)</sup>こと, および従来の突然変異誘発に4000R照射が層々用いられて来たことによる。また照射方法は全身一回照射である。

a) X線照射: X線発生装置 Philips-Xray 250 kV, 25 mA の下で, 57.75 R/min(線源より45cm)の条件で69分16秒で4000 R照射。

b)  $\gamma$ 線照射: <sup>60</sup>Co - 25,000 Rads/hr = 395.8 R/min の条件で, 10.1分間 → 4000 R照射

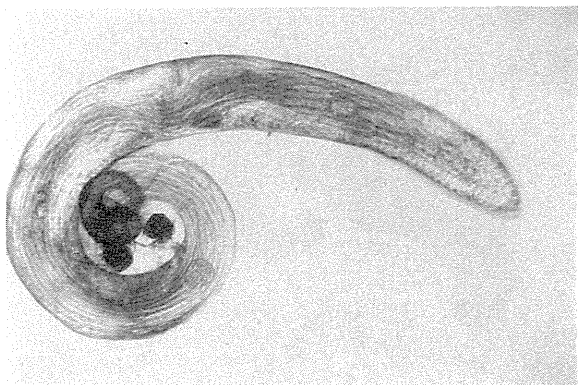
c) 中性子照射: サイクロトロン<sup>27)</sup>の条件は62.0  $\mu$ ahes Be + H<sub>2</sub><sup>+</sup> (12 Mer), 20 inch の距離で1.4時間照射 → 4500 Rad. [Energy distribution Comparable to fission Spectrum (Watt)].

## 実験成績ならびに考察

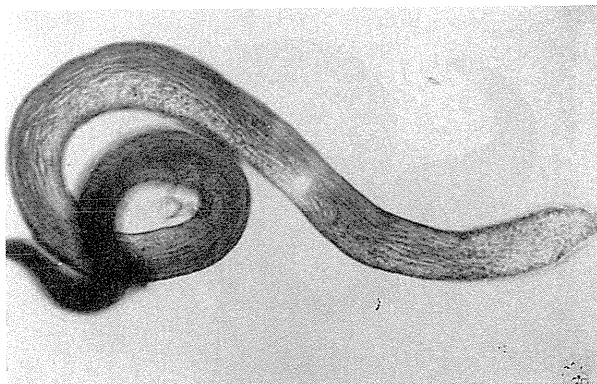
### 1) 正常精巢の日令的变化について

ドロソフィラの系統, 種類, 飼育環境条件とくに栄養により相異はみられるものの, 一般に羽化直後の精巢は軟くて未熟な外観を呈するが, 1日令で成雄の形態(図2)を示した。キイロショウジョウバエの一世代は25°C飼育で約10日とされている。したがって10日令を過ぎる頃より精巢は次第に萎縮の傾向を示し, 20日令を過ぎると, 精巢の大いさは始めの60~70%程度に減少し, 精子発生の退化も見られる。以上の日令的精巢の変化が起きるため, 放射線の影響をドロソフィラ精巢の大いさで調べるためには, 少く共10日令までの変化で評価される必要がある(図2~3)。本実験の大いさの変化に関する測定は, 精巢の写真撮影を用いて, その側面積にもとづき行われたが, 重量計測に匹敵する精度と考えられた。

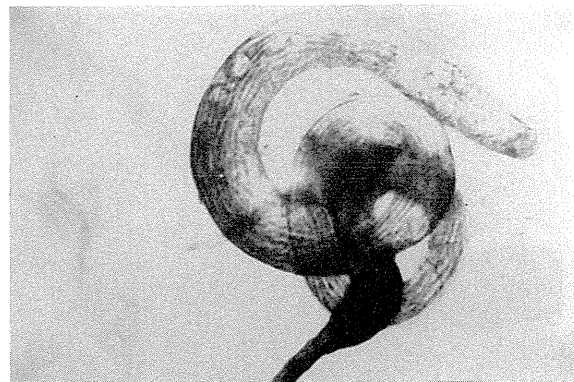
Just hatched



1 day old



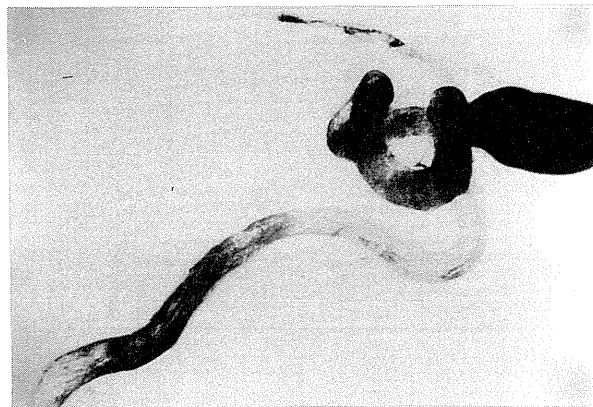
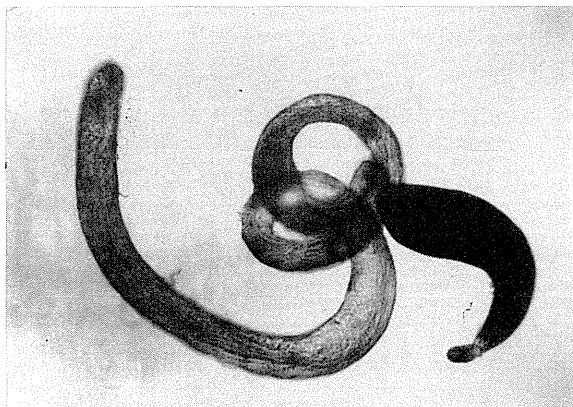
Control



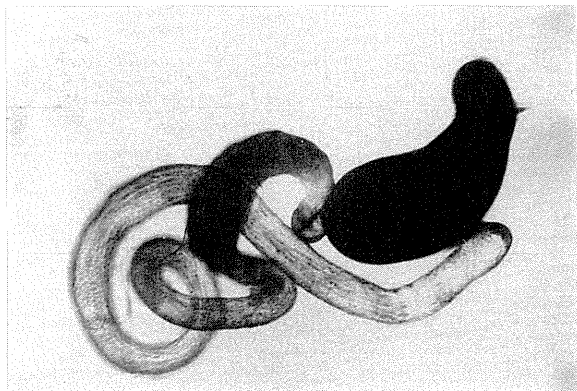
X-ray

図2 ドロソフィラ精巢の日令による変化と放射線照射の影響

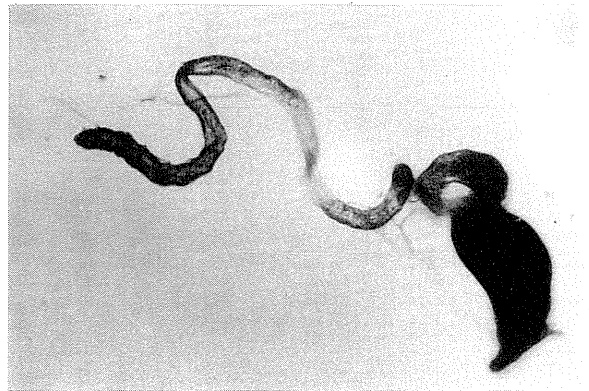
18 days old



30 days old



Control



X-ray

图 3

2) X線照射成績

X線照射雄ドロソフィラの精巣大きさは図2～4に示されるように、照射後2回で明瞭な減少傾向現われ、6

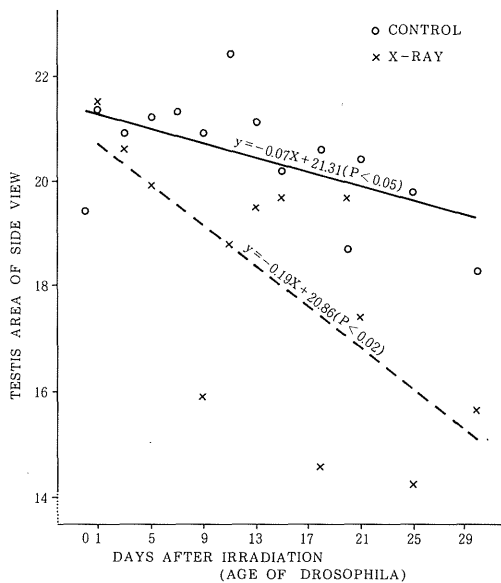


図4 精巣の大きさの日令による変化とX線照射

日目には精巣の大きさが顕著に下り、低い値となった。すなわちマウス(柏原・近藤)<sup>17)</sup>では照射後10～15日以後でないと精巣重量による生物的效果の判定が容易でないことに比べて、ドロソフィラでは照射後数日を経て、X線の影響が精巣の大きさより充分判定されるとすれば極めて興味ある成績である。しかし10日令以後では、精巣の大きさのみで放射線の生物的效果を判定することに疑問が残るであろう。それは正常区といえどもある程度の萎縮が生ずるからである。勿論図2に示されるように照射区と正常区の28日令、30日令の精巣には顕著な相違が見られ、その差が日令を追って益々大となることは事実である。

次に精巣の管の径は照射後1～3日で減少し、5日で最も著しい減少傾向をたどっている。精細胞全体の量的分布は正常区においても日令と共に減少するが、精子発生の過程を精粗細胞、精母細胞(減数分裂の全過程を含

める)、精子に3大別するとき、図5～6に示されるよ

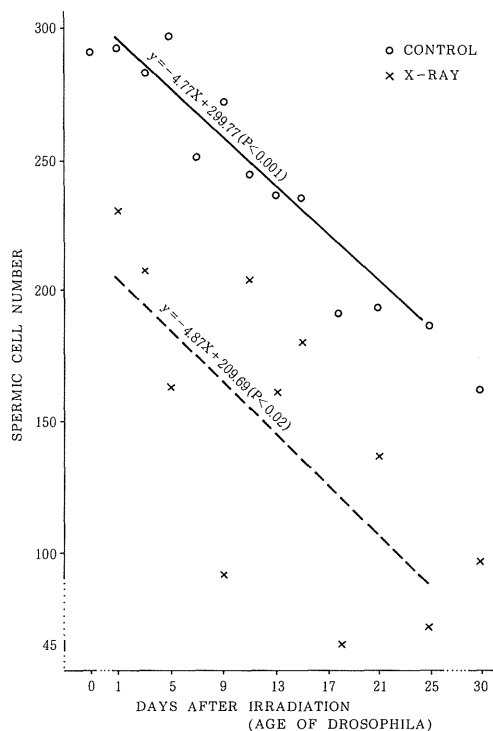


図5 精細胞数の日令による変化とX線照射の影響

うに、照射3日目より減少し、9日令で最低値となり、一方11日令でまた少しく回復し、18日令以後減少の一端をたどった。以上は放射線照射による直接の影響以外、日令にもとづく精細胞分布の変化が重なった結果と思われる。また精粗細胞数の減少は照射区で著しく、9日目で最初の約30%に減少するが、正常区は同一日令で実験開始時の1日令と変わらない精粗細胞の密度であり、30日令でやっと60%に減少する程度であるため、精巣の大きさと共に精粗細胞の分布を確かめることは必要であろう。以上解剖顕微鏡の下で、精細胞の分布密度が調べられるときは、X線照射3日目で放射線の影響が現われるようである。以上は(Welshons & Russel)<sup>23)</sup>の成績と同じ傾向に感ぜられた。

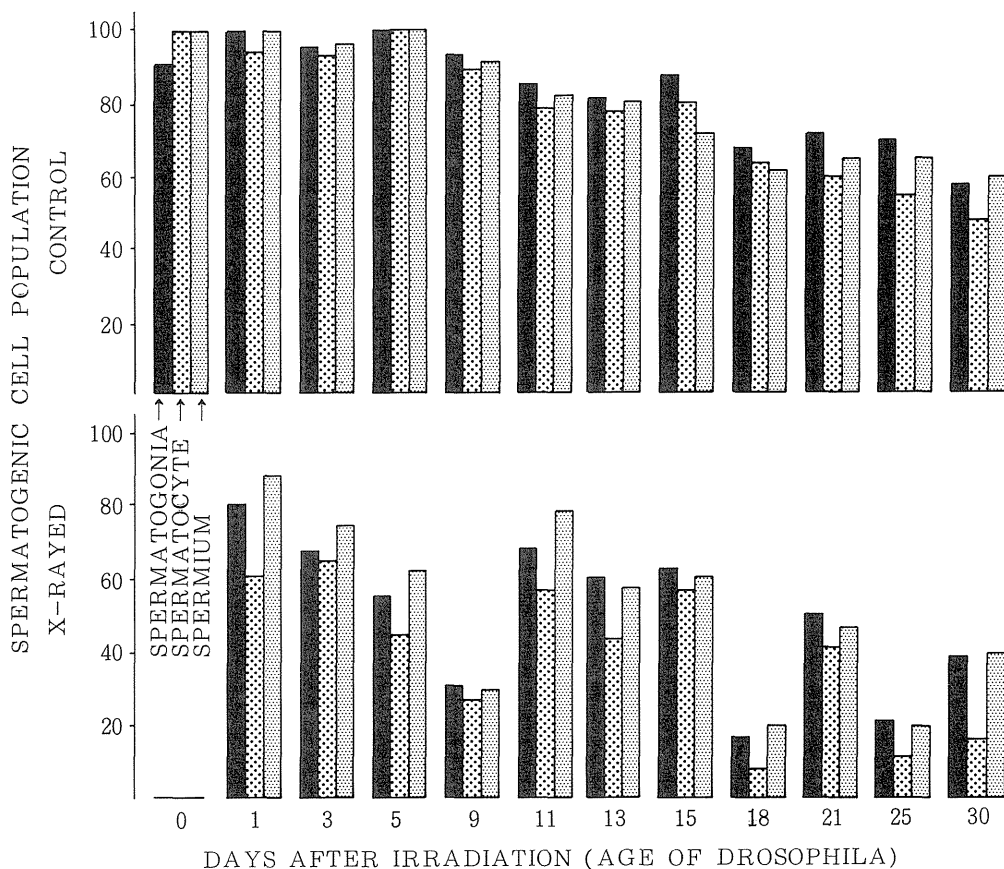


図6 精上皮層の細胞成分の推移

3) X線, γ線ならびに中性子の精巣大きさに及ぼす影響の比較

X線, γ線ならびに中性子をドロソフィラの同一日令, 同一時期に照射した場合, 精巣大きさに対する影響は, 図7に示されるように, X線区の影響は, 水準が高いため顕著でないが, γ線ならびに中性子照射群では精巣の大きさが明らかに減少する結果が得られた。すなわちγ線と中性子の質的差異も関係するが, ドロソフィラ精巣に対し, 直接的な放射線の影響が示されたわけである。本実験ではX線の影響が前回程ではないが, 4日令までの曲線の傾斜角度が, 正常区, γ線区, X線区, 中性子区に急となっているため, 放射線の生物的影響が教課書通りの順番でドロソフィラ精巣にも現われたことは興味深い。すなわちイオン化放射線の生物的效果がドロソ

フィラ精巣の大きさと, 照射後4日目まで判定出来る可能性が本実験により示されたのである。

またγ線, X線, 中性子の順に被爆精巣の大きさ減少の速度が速くなる傾向は, 被爆マウスに対する致死率がγ線, X線, 中性子の順に高まるUpton(1956)の理論<sup>27)</sup>によく似て, イオン化放射線の生物学的作用が, マウスとドロソフィラで同じ傾向を示すといえるであろう。

本実験の中性子照射量は4500Rに相当し, X線およびγ線の4000Rより10%程度多く, その影響を比較する上で, 線量を考慮に入れねばならぬが, 図7に示されるように, 精巣の大きさに対する中性子の効果はX線の場合に比べて30~50%多いと推定される。

近年再び天竺ネズミの精巣重量がイオン化放射線を受けた(X線およびγ線で1500R照射の場合), 被爆後

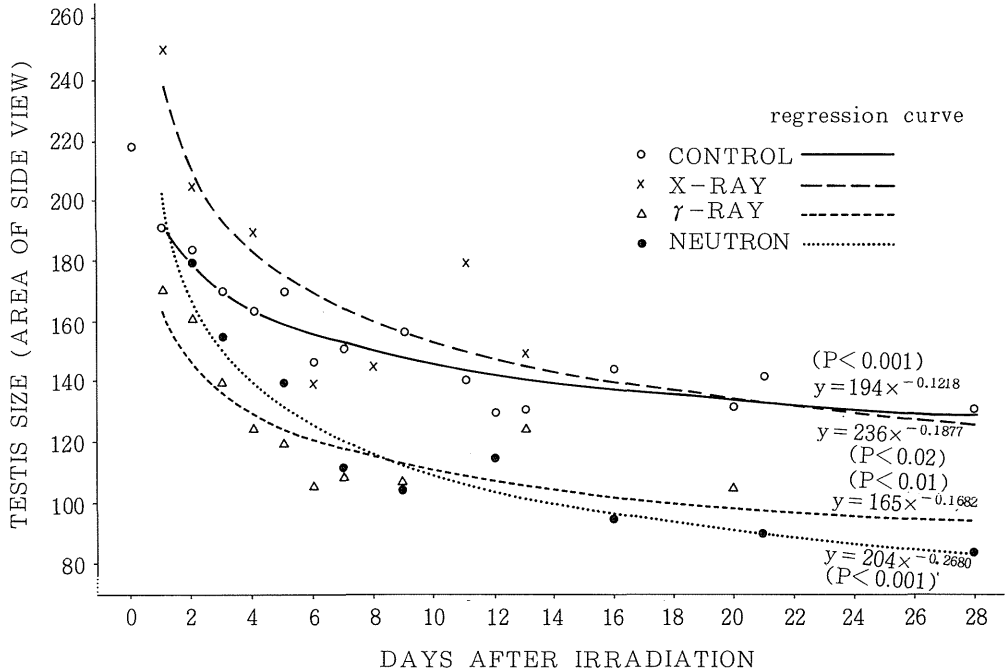


図7 X線,  $\gamma$ 線, 中性子照射による精巣の大きさ比較

30日までは著しい減少はみられぬものの、照射後60日で正常精巣の1/2以下になった報告<sup>25)</sup>に接し、精巣に関する放射線生物学的効果が現在もお追究されていることに対し、Röntgenhodenは古くして、かつ新しいテーマであるといえるであろう。

さてマウス等の被曝線量が400~600Rであるに対し、本実験では4000R照射であり、むしろそれ以下の被曝線量では、図7より考えてドロソフィラ精巣の大きさでBiodosimetryが容易でないと思われる故、照射量の大きい場合に対し、ショウジョウバエ精巣によるBiodosimetryが可能といえるであろう。すなわち数千~数万R被曝のような場合にはショウジョウバエをむしろ利用すべきであると考えた。ショウジョウバエにとって4000R照射はLD<sub>50</sub>の1/10以下であることを考えると、それはマウスの場合(LD<sub>50</sub> = 400R ~ 500R)の1/10 = 40R以下の照射量に相当し、かかる意味ではショウジョウバエ精巣はマウスよりも非常に放射線感受性が高いといえるのである。すなわちマウスでは40R 1回照射で精巣の重量減少を明確に把握出来ないからで

ある。

以上ドロソフィラの羽化直後の雄に放射線を用いる時、実験動物マウスなどで得られたと同一傾向の精巣の大きさ、ならびに精細胞分布の減少がみられ、4000R照射で3~6日後に放射線の効果が判定されると推定された。しかしマウス等に見られる典型的な無精子期を確認出来なかった。それは本実験の被曝線量が4000Rと設定されたことによる(ドロソフィラにとって4000RはLD<sub>50</sub>の1/10以下の線量、また不妊線量が3~4万Rであるため<sup>26)</sup>、また照射後の回数が数日間という短期間があり、事実30日後の精巣では無精子状態も見られる(図2~3)。一方ドロソフィラ的生活環は10日間であることも関連して、放射線の影響は短期に評価すべきであり、放射線の急性効果測定にドロソフィラ精巣の応用価値があると思われる。また精巣の萎縮は一般に受胎力の減退を意味するものであり、それは雄性造精機能の指針であるため、照射雄の受胎性が平行して調べられること、すなわち突然変異誘発の有無を含む子孫への影響も同時に調査されるべきであるが、今回は形態的变化の

みに限定した。

以上成雄ドロソフィラの精巣がマウスの場合と同様、イオン化放射線に対し敏感に反応することが証明された。

### 要約と結論

1. ショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* 精巣の放射線による肉眼的変化(解剖顕微鏡使用)が、照射後30日間追跡された結果、実験動物マウス精巣のX線照射による変化と類似の形態変化が認められた。

2. X線,  $\gamma$ 線および中性子何れも4000R相当が成雄ドロソフィラに全身1回照射され、1~3日後に精巣大いさの減少が認められ、精細胞の分布も同時に著しく減少した。ドロソフィラに対するLD<sub>50</sub>の1/10以下の被爆線量で、照射後早期に精巣の大いさが変化したことは、マウスの場合に比べて、ドロソフィラ精巣の方が放射線感受性大であると思われる。

3. ドロソフィラ精巣に対し、 $\gamma$ 線, X線および中性子の順番で、放射線作用が大となり、放射線生物学の定説に一致する結果が得られた。

4. ドロソフィラ精巣に対する放射線の影響はマウス・ラット等の実験哺乳動物における場合に匹敵するが、ドロソフィラのLD<sub>50</sub>が60,000R以上であるため、小線量よりも、大線量(4000R以上)効果のBiodosimetryに適すると思われた。

5. ドロソフィラ精巣は10日令までしか影響評価に利用出来ないため、放射線の影響を調べる場合は羽化直後の雄が供試されねばならない。すなわち放射線照射によるBiodosimetryが照射後数日以内に必要な場合で、しかも大線量が照射される時、ドロソフィラ精巣は肉眼的影響診断に便利な材料であろう。

### 謝 辞

本研究は柏原が文部省在外研究員として、米国カリフォルニア大学、教授スターン博士の招きで1960~61の間にパークレイ動物学教室において行った業績の一部である。此処に故Stern博士の御指導と御援助、並びにロックフェラー財団の援助に深謝する。またデータ整理

に当り田中亮一博士(現日獣大教授)の御協力を得たことを感謝する。

### 文 献

- 1) Bergonie, J. and L. Tribondeau: Compt. rend. Soc. de biol. Par **57**, 522 (1904)
- 2) Hertwig, O.: Arch. f. mikr. Anat. **77**, 1 (1911)
- 3) Hertwig, G.: Strahlen therapie **11**, 821 (1920)
- 4) Schinz, H. R. and B. Slotopolsky: Ergebn. med. Strahlenforsch. **1**, 443 (1925)
- 5) Regaud, C. and A. Lacassagne: Radiophysiol. et Radiothérapie **1**, 1 (1927)
- 6) Wigoder, S.: British J. Radial. N. S. **2**, 213 (1927)
- 7) Asdell, S. A. and S. L. Warren: Amer. J. Roentg. Rad. Ther. **25**, 81 (1931)
- 8) Snell, G. D.: J. Exp. Zool. **65**, 421 (1933)
- 9) Nakaizumi, M., K. Murati and Y. Yamamura: Nature **140**, 359 (1937)
- 10) Hertwig, P.: Biol. Zentralbl. **58**, 271 (1938)
- 11) Snell, G. D.: Radiol. **36**, 189 (1941)
- 12) von Wattenwyl, H. and C. A. Joël: Strahlen therapie **70**, 499 (1941)
- 13) Bloom, W.: Phys. Rev. **17**, 589 (1937)
- 14) Eschenbrenner, A. B. and E. Miller: Arch Path, **50**, 736 (1950)
- 15) Fogg, L. C. and R. F. Cowing: Cancer Res. **11**, 81 (1951)
- 16) Shaver, S. L.: Amer. J. Anat. **92**, 391 (1953)
- 17) 柏原孝夫: 近藤恭司: 日畜会報 **24**, 184 (1954)
- 18) Kohn, H. I. and R. F. Kallman: Brit. J. Radiol. **27**, 586 (1954)
- 19) Oakberg, E. F.: Radiat. Res. **2**, 369



- (1955) p. 508 (1965) Hafner Pub. Co.
- 20) Russel, W. L. and L. B. Russell: J. Cellular Comp. Physiol Supple, **1**, 103 (1954)
- 21) Friesen, H.: Biol. Z., **6**, 1055 (1937)
- 22) Fritz-Niggli, H.: Proc. I. C. P. S. Atomic Energy, Geneva, **11**, 179 (1956)
- 23) Welshons, W. J. and W. L. Russel: Proc. N. A. S., **43**, 608 (1957)
- 24) Demerec, M.: Biology of Drosophila
- 25) Nour El-Dine, A. A., S. Ismail and A. M. Soliman: J. Egypt. vet. med. Assoc. **35**, 93 (1975)
- 26) Bacq, Z. M. and P. Alexander: Fundamentals of Radiobiology p. **299** (1961), Pergamon Press.
- 27) Upton, A. C.: Radiation Research **4**, (1956) Academic Press.

## THE EFFECTS OF IONIZING RADIATION ON THE SIZE OF DROSOPHILA TESTIS.

TAKAO KASHIWABARA

The morphological changes of *Drosophila* testis were investigated during 30 days after irradiation of X-,  $\gamma$ -and Neutron-rays (Fig. 2~7).

The size of testis was decreased by about 30% after the 4-6th day of 4,000R-irradiation.

It may be concluded that the reduction of size of the irradiated testis is one of the biodosimetry in *Drosophila melanogaster* in much the same way that they have been obtained from male mice.<sup>17)</sup>

(Sci. Rep. Fac. Agr. Ibaraki Univ., No.31, 33 ~ 41, 1983)

