

X線被照射キンギョの頭腎内造血細胞密度と 分裂頻度におよぼす温度の影響

青木一子

(千葉市 放射線医学総合研究所養成訓練部導指室)

Effect of Temperature on Changes in Number of Hematopoietic Cells and
Mitosis in the Headkidney in the X-irradiated Goldfish

Kazuko AOKI

(Division of Training, National Institute of Radiological Sciences, Chiba, Japan)

硬骨魚類にX線全身照射を行なうと、哺乳類で知られていると同様に造血細胞が著しく減少することは、マスノスケ *Oncorhynchus tshawytscha* の幼魚 (BONHAM et al., 1948) およびワキン *Carassius auratus* (青木, 1963) で定量的に報告され、この変化が魚の放射線死と関係あることを示唆している。

一方、致死線量の照射をうけた両生類を低温におくと、放射線による障害の発現がおくれ、生存期間の延長がおこることは *Rana pipiens* (PATT and SWIFT 1948; PATT et al., 1948), *Rana esculenta* (PRASLICKA and HILL, 1959) などで報告された。さらに魚類でもメダカやキンギョを用いて、8kRのX線照射を行った後23°Cで飼育すると平均10日で全個体が死亡するのに (江上ら, 1962; ETOH and EGAMI, 1965), 4°Cの水温では100日後にも殆んど死亡しないことが ETOH and EGAMI (1965), HYODO (1965) によって示された。このばあい放射線死の決定器官の一つとみられる腸上皮ではその形態学的障害の発現がおくれる (HYODO, 1964, 1965) ことも観察された。また SLETTEN ら (1964) はコイ科の *Tinca vulgaris* を ^{60}Co - γ 線照射後18°Cで飼育したばあいの造血組織の放射線感受性を、腎臓および末梢血で調べ5°Cで飼育した個体と比較した。これらの研究は変温動物では放射線障害の発現速度が温度によって支配されることを示している。

今回の実験では、キンギョにおける放射線死と造血組織障害との関係を知る一つのがかりとして、照射をしたのち23°Cで飼育した場合と、4°Cで飼育したときとについて頭腎内造血組織にみられる形態学的变化を時間経過に従って比較した。

材料と方法

本実験は1963年夏から1964年春までに市販の体長4~5cmのワキン *Carassius auratus* を用いて行なった。X線の照射条件は前報で行なった通りで、200kvp, 20ma, 0.5mm Cu+0.5mm Alフィルター使用、線源から照射容器(プラスチック製)中央までの距離は25cm、この位置における空中線量率は400R/分であった。照射後キンギョを20×30×20cmの大きさの水槽に移し、23°Cの恒温室または4°Cの低温室におき、長期実験のばあいはイトミミズを餌と

して与えた。

造血組織の細胞分裂頻度を調べるために、キンギョを断頭後、直ちに主要な造血器官である頭腎をとり出し、すばやく純水で洗ってから3等分し、各々アセトオルセインで固定した。これをスライドグラスの上でおしつぶして1個体あたり3ヶの標本を作製した。これらの標本について各々無作意に視野にあらわれた約2000箇の細胞のうち間腎細胞、クロマフィン細胞および成熟赤血球は除き、CATTON (1951) のいうリンパ様細胞（種々な発生的段階にある細胞）を一括して数え、このうち分裂期（前、中、後および終期を含む）にある細胞の頻度を計算した。

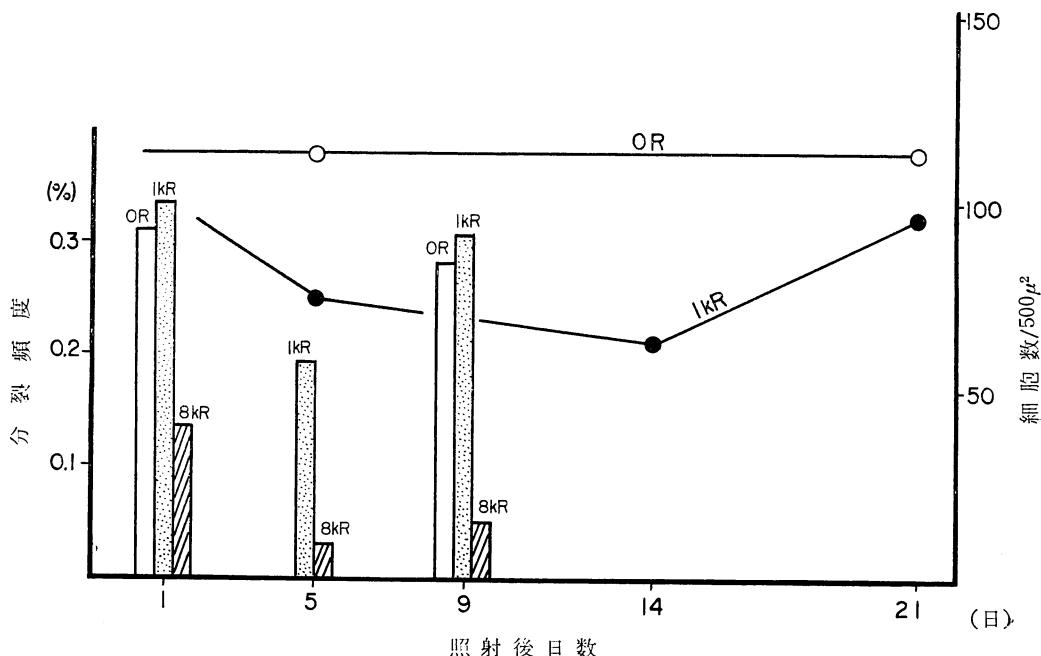
次に細胞密度の変化を調べるために、ブアン固定した頭腎を 5μ のパラフィン切片とし、ヘマトキシリン・エオジン染色をし、この標本の単位面積あたりの細胞総数をマイクロメーターを用いて、1個体あたり5~10視野ずつ測定した。固定した状態での細胞の直径は約 5μ であるのでこの切片中に細胞が二層以上に重なっていることはなかった。

得られた数値の比較にはt-検定を行なった。

結 果

1. 照射後 23°C で飼育された個体の造血細胞分裂頻度の変化。

実験の結果は第1図に示す。この図中に実線で示したものは前報の実験で得られた細胞数に関する結果を附記し比較したものである。これによると、1kRを照射された個体では分裂頻度が照射後5日に下った後9日で正常レベルに戻るが、細胞数が正常のレベルに戻るのはかなりおそらく、この間に少なくとも5日のおくれのあることが明らかになった。次に照射後7~13

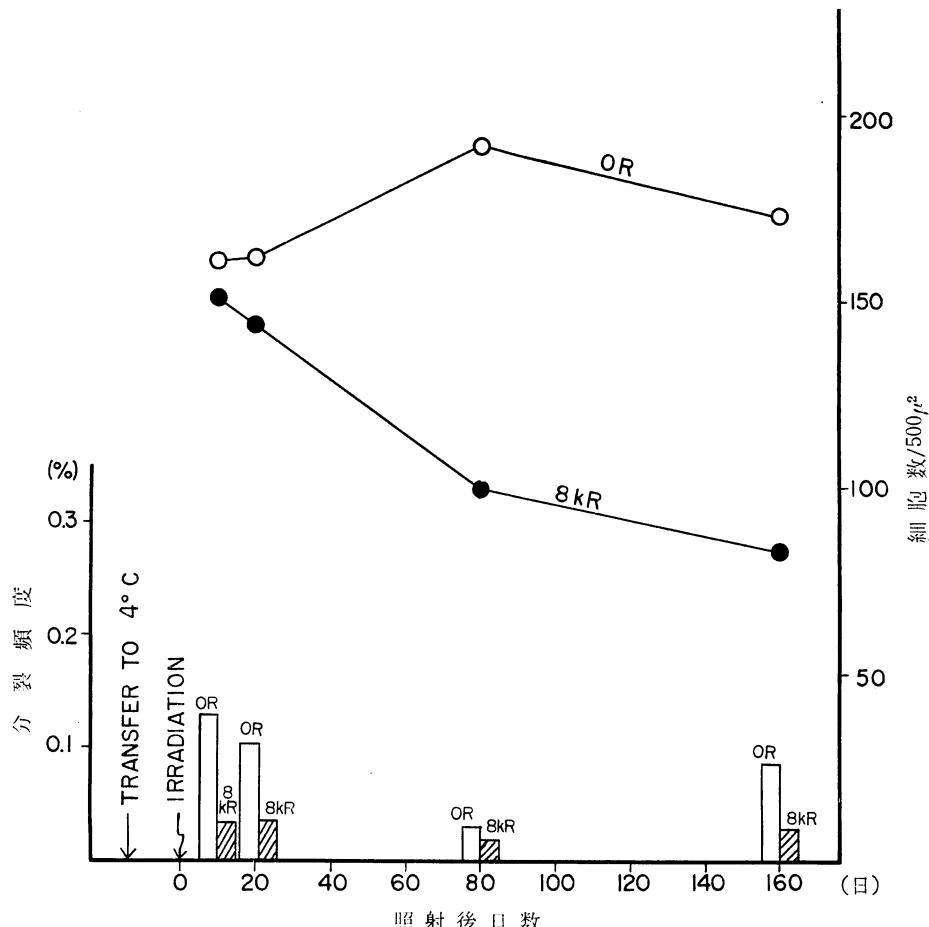


第1図 X線照射後 23°C で飼育したキンギョの頭腎内造血細胞数と分裂頻度の変化。
折線グラフは細胞数、ヒストグラムは分裂頻度をあらわす。

目で全体が死滅する致死線量の 8kR をうけた個体では、照射後 1 日にはすでに正常な分裂の頻度は低下し、5 日目、9 日目には分裂頻度は 1 日目よりも一層低くなつた。なおこのほかに、8kR の照射を受けたものでは異常細胞が多くみられた。

2. 照射後 4°C で飼育された個体の造血細胞数と分裂頻度の変化。

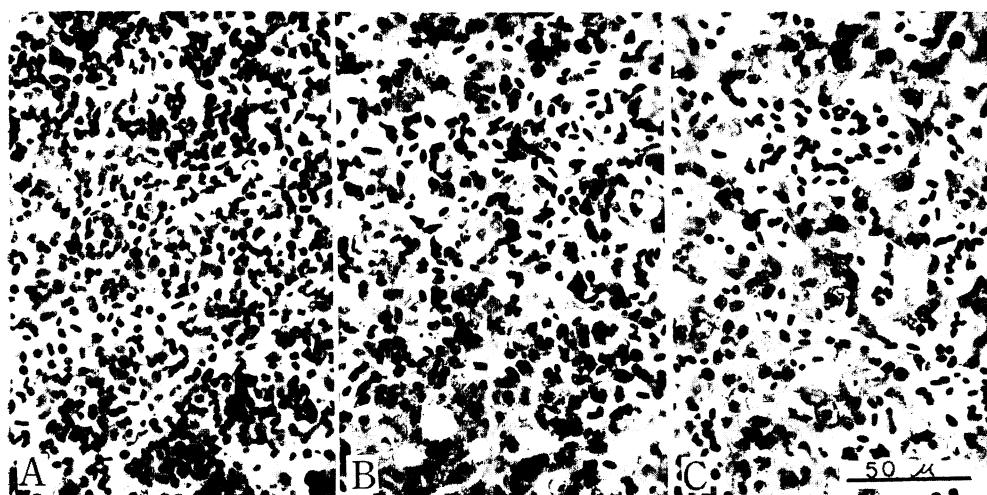
8kR 全身照射をうけたキンギョを 4°C で飼育すると大多数が 160 日以上生存した。この間キンギョの外観には照射をうけた個体とうけない個体との間に差がみられず、餌の摂取も行なつた。造血組織にみられた変化は第 2 図に示す。図中の実線は組織切片の単位面積あたりの細胞



第 2 図 X 線照射後 4°C で飼育したキンギョの頭腫内造血細胞数と分裂頻度の変化。
実線は細胞数、ヒストグラムは分裂頻度をあらわす。

数の変化を示し、照射後 10 日では照射をうけた個体と対照群との間に有意な差はないが、20～160 日では両者の間に有意な差がみられ、とくに 81 日以後は被照射群に著しい細胞数の減少がみられた。組織像をみると、照射後 10～20 日のあいだでは変化がみられなかつたが、81 日以後の核は肥大変形し、クロマチン物質が多くみられ細胞質も肥大した(第 3 図)。

一方分裂頻度の変化をみると、一般に低温におくだけれど頻度は減少し、第 2 図のヒストグラ



第3図 X線照射後4°Cで飼育したキンギョの頭腎内造血組織像の変化。

A: 0R 81日, B: 8kR 照射後81日, C: 8kR 照射後160日。

ムに示したように10日から160日のあいだ、いずれも対照にくらべ照射をうけた個体の分裂頻度が著しく低下した。なお、4°Cで飼育した場合のおしつぶし標本では、23°Cにおいてはあいにみられた異常細胞が殆んどなかった。

論 議

前報で1~8kRのX線全身照射をうけた後23°Cで飼育したキンギョについては、照射後5日から14日のあいだに著しい造血細胞の減少がみられること、1kRをうけた個体では照射後3週間で細胞数が正常なものに近くなるが、4~8kRをうけたものでは造血作用の回復は起らず死亡することを報告した。

今回の実験のうち、第一実験は前回の結果を解析するため細胞分裂の頻度をかぞえ、第二の実験では照射したキンギョを4°Cで飼育し、放射線による造血器官の障害発現に対する温度の影響を調べた。

第1実験：1kRの全身照射をうけた個体における造血細胞が回復する過程で、細胞分裂の頻度が正常レベルに達して(照射後9日)からしばらく間をおいた後(照射後3週間)に造血組織内の細胞数が正常レベルまで回復した。硬骨魚の腎臓内造血組織の細胞の種類構成は、CATTON(1951)によると孵化後1年の正常な *Salmo trutta* では、大リンパ様血球芽細胞(33%)、前顆粒芽細胞(17%)、顆粒細胞(10.4%)、赤芽細胞(10%)、小リンパ様細胞(29.6%)から成り立っているという。キンギョの頭腎でも、著者の予備的な観察から白血球系の細胞の割合の多いことがわかった。このような細胞構成の造血組織が、1kRのX線をうけるとその数が一旦減少したのち3週間目にはすでに正常レベルまでに増加する。これに対し WATSON ら(1963)はキンギョの末梢血中の全白血球数が照射後30日をへても正常レベルまで増加しないことを報告している。彼等の結果からは1kRの照射をうけたキンギョの末梢血中の白血球が正常に戻るのは60日以上かかるものと推定される。

第2実験：8kRの照射をうけたキンギョを4°Cで飼育すると、23°Cで飼育したばいの約

16倍以上の期間生きのびることがわかった。その間外見的には変化が起らないが、造血細胞数と分裂頻度は徐々に低下し、約80~160日では正常の57~48%となった。この結果から、8kRの照射をうけたキンギョを4°Cで飼育すると23°Cのばあいより著しく長く生きのびるが、造血組織では高温のばあいと似たような変化が極めて徐々にではあるが起っていることがわかった。しかし両者のあいだには細い点でその現象に違いのあることが認められたので、更に研究を進めたい。

要 約

1. キンギョ *Carassius auratus* に1, 8kRのX線全身照射を行ない照射直後から23°Cまたは4°Cで飼育し、その後の頭腫内造血組織切片の単位面積中の細胞数と分裂頻度の変化を調べた。
2. 1kRの照射後23°Cで飼育された個体の造血細胞の分裂頻度は、1日後には有意な差がないが、5日後に調べると減少がみられ、9日後には正常レベルに戻った。8kRの照射をうけると1日後にすでに減少し、5, 9日後には著しく低下し死に至る(第1図)。
3. 8kR照射後4°Cで飼育された個体の頭腫切片単位面積あたりに含まれる造血細胞数は、10日後には対照と有意な差を示さないが、81日後では減少し、160日には対照の約50%となった。一方、分裂頻度は10, 20日後ですべてに対照にくらべ著しく減少し160日では対照の28%であった。
4. 8kRをうけた後4°Cにおかれたキンギョの頭腫内造血組織には、81~160日後に23°Cにおいたばあいと同様に肥大変形し、染色性も低い細胞が現われた。

謝 辞

本研究を行なうにあたって御指導下さった江上信雄生物研究部長と研究に便宜を与えられた飯田博美養成訓練部長に厚く御礼申し上げる。また実験に御助言と御援助下さった生物第2研究室加藤旌夫氏と生物第1研究室の諸氏に感謝する。

文 献

- 青木一子 1963: キンギョの頭腫内にある造血組織におよぼすX線全身照射の影響。動物学雑誌 72: 283-288.
- BONHAM, K., L. R. DONALDSON, R. F. FOSTER, A. D. WELANDER AND A. H. SEYmour (1948) The effect of X-ray on mortality, weight, length and counts of erythrocytes and hematopoietic cells in fingerling chinook salmon, *Oncorhynchus tschawytscha* WALBAUM. Growth, xii, 107-121.
- CATTON, W. T. 1951: Blood cell formation in certain teleost fishes. Blood, vi, 39-60.
- 江上信雄, 江藤久美, 館鄰, 兵藤泰子 1962: キンギョとメダカにおけるX線被照射量と生存期間との関係。動物学雑誌 lxxi, (10) 313-321
- ETOH, H. AND N. EGAMI (1965) Effect of temperature on survival period of the fish, *Oryzias latipes*, following irradiation with different X-ray doses. Annot. Zool. Japan, xxxviii, 114-121.
- HYODO, Y. (1964) Effect of X-irradiation on the intestinal epithelium of the goldfish, *Carassius auratus* I. Histological changes in the intestine of irradiated fish. Annot. Zool. Japan, xxxvii, 104-111.

- HYODO, Y. 1965: Effect of X-irradiation on the intestinal epithelium of the goldfish *Carassius auratus* II. Influence of temperature on the development of histopathological change in the intestine. *Radiation Research*, xxiv, 133-141.
- PATT, H. M. AND M. N. SWIFT 1948: Influence of temperature on radio-sensitivity in the frog (*Rana pipiens*). *Fed. Proc.*, vii, 90-91.
- PATT, H. M. AND M. N. SWIFT Influence of temperature on the response of frogs to X-irradiation. *Am. J. Physiol.*, clv, 388-392.
- PRASLICKA, M. AND M. HILL 1959: The effect of a low temperature on the development of radiation injury in frogs. *Folia Biol.*, v, (5) 348-355.
- SLETTEN, K., D. LOCKNER AND G. HEVESY 1964: Rediosensitivity of hemopoiesis in fish. I. Studies at 18°C. *Int. J. Rad. Biol.*, viii, (4) 317-328.
- WATSON, L. J., I. L. SHECHMEISTER AND L. L. JACKSON 1963: The effects of X-irradiation on goldfish. II. The effect of total-body X-irradiation on the hematology of *Carassius auratus*. *Physiol. Zool.*, xxxvi, (4) 370-382.