

氏 名 (本籍) 新 宅 裕 子

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 第 2154 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 元 年 9 月 27 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 57 年 3 月
山形大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 パルス波超音波照射がマウス胎仔に及ぼす影響
—姉妹染色分体交換を指標として—

(主 査)
論 文 審 査 委 員 教授 矢 嶋 聰 教授 吉 永 馨
教授 及 川 淳

論文内容要旨

超音波診断は近年産科領域で広く用いられており、胎児に対する安全性の検討は重要な課題である。一方姉妹染色分体交換 (sister chromatid exchange, SCE) は染色体DNA傷害の鋭敏な指標とされ、種々の環境変異原のscreeningとして用いられている。超音波がSCEに及ぼす影響に関しても、主としてin vitroでの検討を中心に報告がなされてきた。生体に与える影響を検討するためには、in vivoの実験が不可欠と考えられるが、これまでにin vivoでSCEに及ぼす影響を検討した報告はきわめて少ない。今回妊娠マウスにパルス波超音波を照射し、in vivo SCE分析を用いて、超音波照射が胎児に及ぼす影響を検討した。

【方 法】

妊娠13日目のC₃H/Heマウスに尾静脈よりBrdU 50mg/kg/hrを15~24時間持続静注しBrdUをラベリングした。マウス母獣では骨髓細胞、胎仔では肝細胞の染色体標本を直接法により作成した。modified FPG染色によりSCE染色を行ない、SCE頻度及び細胞分裂周期を検討した。照射群では37°C恒温槽内で超音波をマウス下腹部に照射した。照射にはパルス波超音波発生装置USP-1 (2 MHz, pulse duration 10 μsec, pulse frequency 1000Hz)を用いた。まず、BrdU投与開始1時間後に586.2mW/cm²の超音波強度で10分間照射してこれを基準の照射とし、非照射群と比較した。次に、超音波照射時間、超音波強度のそれぞれを変化させて検討した。さらにBrdU投与開始より24時間前の照射がSCEに影響を及ぼすかを調べる目的で、24時間前照射群、24時間前と投与開始1時間後の2回照射群 (照射条件は基準とした照射) について検討した。SCEの検討には各群4~6頭、1頭あたり30細胞、計120~180細胞以上の1細胞毎のSCEを数えた。各群間の有意差検討は、Wilcoxon-testを用いた。細胞分裂周期の検討では、各々200細胞について1st, 2nd, 3rd divisionの割合を調べ、各々のcell cycleを検討した。

【結 果】

平均音響強度586.2mW/cm² (SATA) で10分間超音波を照射すると、SCEs/cell (mean ± SE) は、母獣骨髓細胞では非照射群2.77 ± 0.14 (n=120) に対して、照射群3.93 ± 0.18 (n=150)、胎仔肝細胞では非照射群2.64 ± 0.10 (n=240) に対して、照射群3.84 ± 0.14 (n=180) であった。母獣骨髓細胞、胎仔肝細胞の両者で、超音波照射群では非照射群に比し有意なSCEの増加を認めた (P < 0.01)。また、SCEs/cellの頻度分布はポワソン分布に従っていた。

照射時間を変化させると、母獣骨髓細胞では15分照射で3.78 ± 0.16 (n=120)、胎仔肝細胞で

は5分照射で 3.10 ± 0.14 ($n=120$), 15分照射で 3.85 ± 0.16 ($n=120$)であった。照射時間の延長によりSCE頻度が上昇する傾向が認められたが、10分と15分の照射ではSCEに差は認められなかった。

超音波強度を変えると、 160.0 mW/cm^2 の照射では 2.69 ± 0.16 ($n=120$)で非照射群との間に有意差を認めなかったが、 278.9 mW/cm^2 では、 3.78 ± 0.14 ($n=180$)で有意差を認めた。このことから超音波がSCEに影響を及ぼす平均音響強度の閾値は 200 mW/cm^2 前後と推定された。

BrdU投与24時間前照射群では、 2.19 ± 0.09 ($n=180$), 24時間前とBrdU開始1時間後の2回照射では、 3.62 ± 0.13 ($n=180$)であった。2回照射群では非照射群との間に有意差があったが、24時間前照射群では有意差はなかった。すなわち、BrdU投与開始より24時間前の照射は、SCEに影響を及ぼさなかった。

細胞分裂周期の検討では、非照射群と照射群との間に差を認めなかった。しかし母獣骨髓細胞と胎仔肝細胞との間には細胞分裂周期に明らかな相違が認められ、BrdU19時間投与時には母獣では2nd divisionの割合が最も高かったのに対して、胎仔では3rd divisionの割合が最も高かった。2nd divisionのピークからみた胎仔肝細胞の細胞分裂周期は、母獣骨髓細胞に比し約8時間早かった。

【結 論】

超音波照射によりマウス母獣骨髓細胞、及び胎仔肝細胞のSCEは有意に増加した。胎仔肝細胞において、SCE増加には閾値が存在しその値は 200 mW/cm^2 前後と考えられた。また、超音波照射は細胞分裂周期に対しても影響を及ぼさなかった。

審 査 結 果 の 要 旨

近年産科領域において超音波診断が胎児の発育、異常のscreeningの目的で広く行なわれている。産科における超音波診断は、胎児を対象としている点で特殊性があり安全性の検討はきわめて重要と考えられる。これまで超音波の胎児に及ぼす影響に関しては、疫学調査を含め数多くの報告があるが、胎児に対する安全域については未だ不明な点が多い。

本研究はmutagenあるいはcarcinogenに対する鋭敏な指標と考えられる姉妹染色分体交換(SCE)を用いて胎児に対する超音波の影響を検討したものである。

従来SCEを用いた超音波の安全性の検討については、培養細胞に超音波を照射したin vitroにおける報告が大部分を占める。胎児に対する影響を研究するためには、妊娠動物を用いたin vivo SCE分析が不可欠であると考えられるが、生体に超音波を照射し、in vivoでSCEを検討した報告はきわめて少ない。本研究はパルス波超音波を妊娠マウスに照射し、in vivo SCE分析を指標として安全性を検討した。

超音波照射は2MHzを出力とするUSP-1型の実験用パルス超音波照射装置を用いた。照射条件が複雑であるために、まず、パルス幅10 μ sec, 繰り返し周波数1000Hz, 超音波強度580mW/cm²に固定し、BrdU投与開始1時間後に10分間の照射を行なった。この照射によりマウス母獣骨髓細胞、及び胎仔肝細胞のSCEは有意な増加が認められた。

さらに、超音波強度を変えてSCE頻度を検討した結果、胎仔肝細胞において160.0~278.9mW/cm²で、SCE増加に閾値が認められた。この値は、同じ実験装置を用いヒトリンパ球にin vitroで照射してSCEを検討した小澤らの報告の約5倍の強度であった。

次に細胞分裂周期について検討し、超音波照射は細胞分裂周期に影響を及ぼさないことが示された。

産科領域において超音波は今後さらに高頻度に胎児診断に利用されることが考えられる。本研究は臨床上用いられる超音波の胎児に対する安全性を検討し安全域を明らかにしたものであり、学位授与に値する。