

課題番号 3

被災アカネズミ精子を用いた後代作出実験系の構築と 遺伝的影響の解析

[1] 組織

代表者：山城 秀昭

(新潟大学農学部)

対応者：福本 学

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 16 万円，旅費 0 円

[2] 研究経過

【目的】東京電力福島第一原子力発電所の事故により放出された放射性物質は、周辺地域の環境中に生息する野生動物に何らかの影響を及ぼす可能性は高い。特に、精巣は放射線感受性が高く、また、次世代影響に直接的に関与することから、生殖機能への放射性物質の影響を明らかにすることは、生態系に対する影響評価の指標、リスク管理、更にはヒトへの生殖機能被害の未然防止といった観点からも極めて重要である。しかし、捕獲した野ネズミのみを解析しただけでは、事故後の放射線の影響により何等かの影響を受け、胎児期や幼少期に自然淘汰された個体を捕獲することは困難であり、かつ、解析することは出来ない。野生動物において放射線影響を明らかにするためには、自然の環境に制御されない、実験系による科学的根拠による評価も必要不可欠である。そこで本研究では、第一に、繁殖期の被災アカネズミにおける精巣内生殖細胞の増殖能の評価を目的とした。

【材料・方法】2014 年 3 月 10 日、警戒区域内の低線量、中線量および高線量地区にて、シャーメントラップを用いて野生アカネズミを捕獲した。対照地区の野生アカネズミは、新潟県新潟市にて捕獲した。摘出精巣は、ブアンで固定後、パラフィンで包埋し切片を作製した。作製した切片は、HE 染色および精原細胞と一次精母細胞の分裂初期で発現が確認できる抗 PCNA 抗体を用いて免疫組織化学染色を施した。HE 染色における観察項目は、精細管内の精子を除いた生殖細胞数、精子数、総生殖細胞数とした。なお、観察した精細管の条件は、直径 160-190 μm 、円形かつ完全な基底膜を有し、一つの精細管内で精

原細胞から精子までの発生が観察できる精細管を解析対象とした。免疫組織化学染色においても、上記と同様の条件で、PCNA 陽性細胞数をカウントした。

また、平成 26 年 11 月に東北大学加齢医学研究所にて、実験方法や今後の研究計画の議論と報告を行っている。

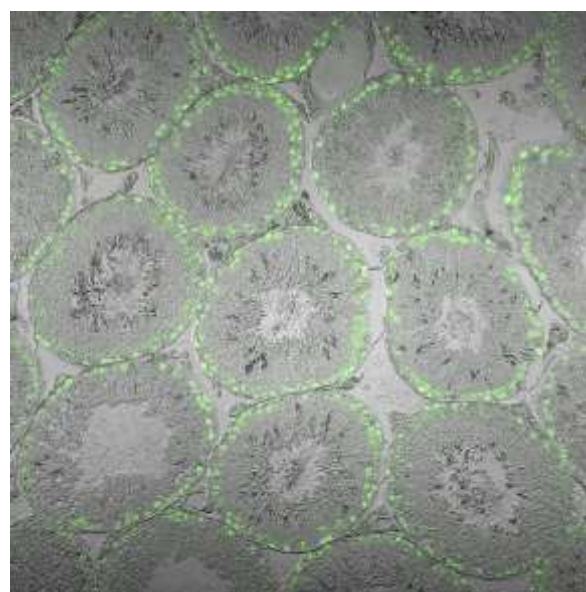


図 精細管における PCNA 陽性細胞の免疫組織化学染色像

[3] 成果

(3-1) 研究成果

【結果・考察】精子数の比較では、対照地区、低線量、中線量、高線量地区とも有意な差は認められなかった。しかし、精子を除く生殖細胞数は、対照地区、低線量、中線量、高線量地区の順で増加する傾向が示された。特に、高線量地区の値は、他の全ての地区の値と比較して有意な差が認められた。各地区のアカネズミ郡における PCNA 陽性細胞数は、対照地区と比較し、低線量、中線量、高線量地区の順で有意に増加していた。以上の結果より、低線量、中線量、高線量地区の被災アカネズミの精子数は、対照地区の数と比較して差が認められなかったが、事故により拡散された放射性物質は、繁殖期の被災アカネズミにおける精原細胞と一次精母細胞の分裂促進に影響を及ぼしている事が示唆された。今後、

円形精子細胞から機能的な精子に変態する形成過程への影響についても解析を実施する。

(3-2) 波及効果と発展性など

野生のネズミにおける生殖技術の開発に関する研究は、これまで生態学の調査を基礎として研究されていた分野のため、ほとんど報告されていない。現在、野生のネズミにおける放射線影響を科学的根拠に基づいて明らかにするため、自然の環境に制御されない、過排卵処理、体外成熟、体外受精、受精卵移植などの生殖技術を基盤とした実験系を構築に関する実験は継続中である。

本共同研究により、新潟大学農学部と東北大学加齢医学研究所の交流が深まり、活発な意見交換や議論が行われた。また、本共同研究を継続して遂行されることにより、野生のネズミにおいて様々な評価試験に汎用できる技術が提供されるようになるだけでなく、先端生殖・発生工学の応用が可能になり、飛躍的に放射線の影響、生命現象の解析にも貢献する研究と位置づけられ、今後の発展が期待されている。

[4] 成果資料

(1) 被災アカネズミの雄性生殖細胞における増殖能の評価。瀧野祥生, トウビン, 菅野有晃, 岩島玲奈, 秋山 将, 中田章史, 葛西宏介, 三浦富智, 福本 学, 山城秀昭. 日本放射線影響学会第 57 回大会. 口頭. 鹿児島県民交流センター. 平成 26 年 10 月 1 日~3 日.

(2) 被災アカネズミにおける精巣内生殖細胞の増殖能の評価。瀧野祥生, 菅野有晃, 岩島玲奈, 秋山 将, 中田章史, 葛西宏介, 三浦富智, 福本 学, 山城秀昭. 第 33 回分子病理学研究会. ポスター. 宮城蔵王ロイヤルホテル. 平成 26 年 7 月 25 日~26 日.