

## ヒドラへの超音波照射の生物学的影響

福堀順敏<sup>1</sup>, 木村隆英<sup>2</sup>, 佐藤 浩<sup>3</sup>, 安藤喬志<sup>2</sup>

滋賀医科大学 <sup>1</sup>放射性同位元素研究センター, <sup>2</sup>化学教室, <sup>3</sup>生物学教室

### 要約

個体全体が細胞再生系を構成するヒドラを用い、超音波の生物学的影響をX線のそれと比較して調べた。超音波とX線はともにOHラジカルを発生させるが、両者の照射後に観察されるヒドラ組織の変化は大きく異なっていた。

### 序

超音波は元来电離作用をもたないが、電離放射線であるX線と同様に医療の分野でいずれも有用な手段として活用されてきた。近年の技術革新によりその応用範囲も広がっている。とくに超音波の研究は、物理学の分野から化学、生物学の分野へも浸透してきている<sup>1)</sup>。

我々は、この異なった性質の超音波とX線が、ともにOHラジカルを発生させるという共通点に着目し、超音波の生物学的効果をX線の効果<sup>2)</sup>と比較して調べることにした。細胞分裂の盛んな造血組織などの細胞再生系がX線に感受性があることから、材料として個体全体が一つの細胞再生系を構成している腔腸動物のヒドラを用い、それに対する両者の影響を比較したので報告する。

### 材料と方法

ヒドラ (*H. oligactis* ♀) は内外2胚葉からなり、触手、口丘、胃域、出芽域、柄部、基部の6つの部位から構成されている (Fig. 1)。ヒドラの飼育は20°Cの恒温槽内で行った。エサとしてアルテミア (*Artemia*) の幼生を1日1回与えた。

飼育液は1mM Tris-HCl (pH7.6), 1mM NaCl, 0.1mM KCl, 1mM CaCl<sub>2</sub>, 0.1mM MgSO<sub>4</sub>を使った<sup>3)</sup>。

X線照射には日立メディコ社製MBR-1520Rを使用し、照射条件は150kV, 20mA, 2.0mm Al, 3.4Gy/minとした。また、超音波照射にはOG技研社製超音波治療装置 ES-1 (Fig.2) を使用し、照射条件は1 MHz, 5W/cm<sup>2</sup>で行った<sup>4)</sup>。

X線照射はヒドラをプラスチックシャーレ (Falcon3002) に入れて行った。

超音波照射はヒドラを2mLの水とともにガラス (平底) の短試験管に入れ、水槽に浸したその短試験管を30rpmで回転させながら照射した。照射後、ヒドラをファルコン・マルチュェル (12穴, Falcon3043) に1個体ずつ入れ、以後約一ヶ月間 20°Cで飼育した。

組織切片の染色はMALLORY-HEIDENHAIN法を用いた<sup>5)</sup>。

また、OHラジカルはフリッケ測定法により、304nmの吸光度から定量した<sup>6)</sup>。

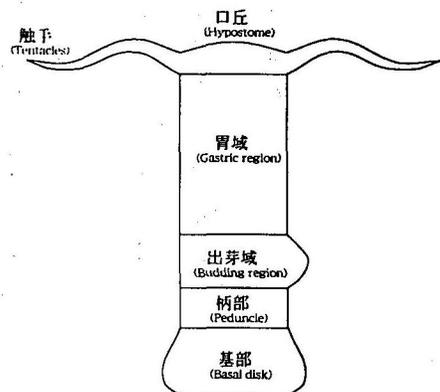


Fig. 1 ヒドラの構成

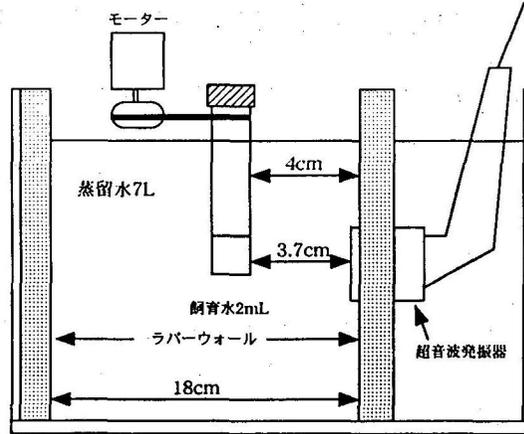


Fig. 2 超音波照射装置

## 結果と考察

### 1. 生存率への影響

超音波とX線の生存率を Fig. 3 に示した。超音波を照射されたヒドラは、 TENTAKUL がなくなり丸くなった。2W/cm<sup>2</sup>, 10min 間の照射では2日後には半数が死んだが、残りは生き続けた。3W/cm<sup>2</sup>, 10min 間の照射では2日後に90%が死んだ。4W/cm<sup>2</sup>, 10min 間の照射では2日後に全てのヒドラが死んだ。生き残ったヒドラは TENTAKUL を再生し、生き続けた。

一方、100GyのX線照射を受けたヒドラは、9日目までは外見上コントロール群と変わりがなかったが、10日目から TENTAKUL が消失し始め、ついには個体死に至った。すなわち、3W/cm<sup>2</sup>以上、10min の超音波照射と100GyのX線照射は、いずれもヒドラに死に至るほどの生物学的傷害を与えたが、その死に至る過程は異なっていた。

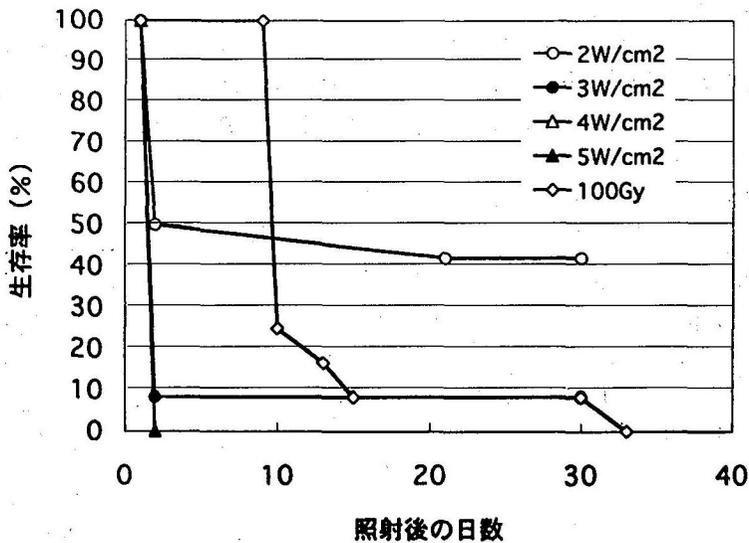


Fig. 3 超音波とX線照射後の生存率  
照射条件：超音波 (20°C, 10min), X線 (3.4Gy/min, 29.4min)

## 2 OHラジカルの発生

X線によって引き起こされる生物学的損傷は、X線照射によって発生するOHラジカルによると考えられており、<sup>2)</sup> また、水への超音波照射もOHラジカルを発生させることが知られている<sup>1)</sup>。そこで、今回の実験条件下における超音波とX線によるOHラジカル発生量を、フリッケ測定法により比較定量した。

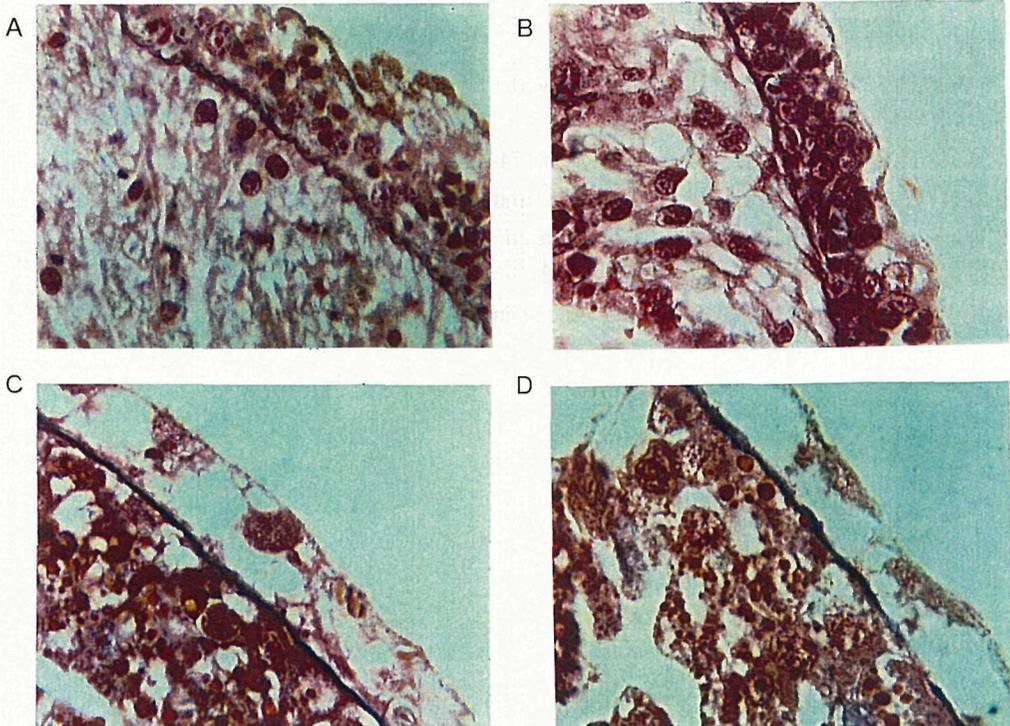
5W/cm<sup>2</sup>, 10min 間の超音波照射では  $5.2 \times 10^{-6}$  mol/l のOHラジカルが発生し、100GyのX線照射では  $1.0 \times 10^{-4}$  mol/l のOHラジカルが発生した。超音波照射により発生するOHラジカル量はX線照射の場合の約20分の1以下であることがわかった。しかしながら、超音波照射により引き起こされる生物学的傷害はX線照射によるよりも急激であった。

## 3 組織への影響

超音波とX線の照射により、ついには死に到る程の生物学的影響を受けたヒドラの組織（内胚葉、外胚葉）がどのように変化しているかを調べるため、組織切片を作成しMALLORY-HEIDENHAIN法で染色して調べた。ヒドラの組織では、メソグリアを境にしてその外側の外胚葉に多くの interstitial cells が存在している (Fig.4-A)。

100GyのX線を照射後3日目までは、組織に著しい変化は観察されないが (Fig.4-B), 7日目, 9日目ではメソグリアを境にして外胚葉側に大きい空間が生じている (Fig.4-C, D)。これは interstitial cells がダメージを受けた結果と考えられる<sup>2)</sup>。

それに比べて5W/cm<sup>2</sup>, 10min の超音波照射では、照射直後にヒドラ体表面の破壊やメソグリアが変形するほどのダメージを受け (Fig.4-E), ほとんどのヒドラが死に至る。しかし、まれに内胚葉に存在する細胞にダメージが少なく、外胚葉の interstitial cells の多くが2日目まで生き残った場合には (Fig.4-F), ヒドラの組織は正常な組織にまで再生される。



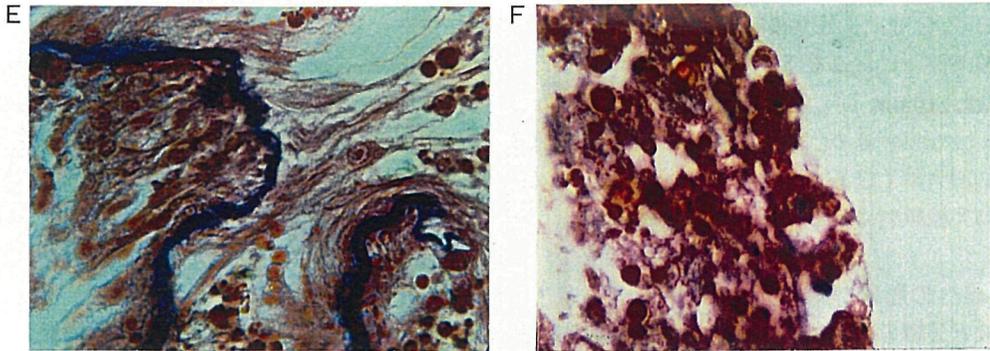


Fig. 4 超音波およびX線を照射後のヒドラ組織の経時変化

A : コントロール、B-D : X線照射後 (1日目、7日目、9日目)、E F : 超音波照射後 (直後、2日目)、倍率×600  
照射条件 : 超音波 (20°C, 5 W/cm<sup>2</sup>, 10min), X線 (3.4Gy/min, 29.4min)

以上のことから、細胞再生系を有する組織への超音波とX線の影響は明確に異なることが分かった。すなわちX線照射では、ヒドラの interstitial cells の損傷はかなり時間を経て起こり、この損傷がOHラジカルによる化学的なものであることが推察されるのに対し、超音波照射のヒドラへの影響は急激であり、OHラジカルの発生量が微量であるにもかかわらず破壊的であることから、主としてキャビテーションによって生じる機械的作用に起因するものであると考えられる。現在、この超音波の機械的作用が、ヒドラを構成する異なった細胞に対して均等に作用しているのかどうかを検討しつつある。

#### 参考文献

- 1) K.S.Suslick : "ULTRASOUND, Its Chemical, Physical, and Biological Effects", VCH Publishers, Inc., USA (1988).
- 2) K.Noda, N.Egami, Radiat. Res. (1975) 63, 174-184.
- 3) T.Sugiyama, T.Fujisawa, Develop., Growth and Differ. (1977) 19, 187-200.
- 4) Y.Fuchikawa, N.Fukuhori, Y.Doita, Bull. Shiga Univ. Med. Sci. (1995) 6, 25-31.
- 5) 佐野豊, 組織学研究法 南山堂 (1974), 220-221
- 6) A.K.Jana, S.N.Chatterjee, Ultrasonic Sonochemistry (1995) 2, S87-S91.