

# 審査の結果の要旨

氏名 永田 健斗

本博士論文研究は、脊椎動物におけるモデル動物の一つであるメダカ (*Oryzias latipes*) の精巣への放射線影響に着目し、照射条件の異なる放射線が誘発する精原細胞の異常分化（精巣卵誘導）を詳細に比較したものである。

第 1 章においては、部分遮蔽照射実験とマイクロビーム照射実験により、p53 遺伝子変異メダカにおける精巣卵が、直接的に被ばくした A 型精原細胞に限局的に誘導されることを初めて見出した。また、精巣卵の形成過程が放射線の線質（炭素線、プロトン）の差には異存しないことを明らかにした。

第 2 章においては、高線量 5 Gy のガンマ線 ( $^{137}\text{Cs}$ ) を慢性照射（9 日間連続）、分割照射（0.5 Gy  $\times$  10 日間）、を p53 変異メダカに施し、これまでに報告されている急性照射（40 秒間）による影響と組織学的に比較した。高線量ガンマ線による慢性照射および分割照射によって誘導される精巣卵は、放射線照射 28 日後においても精巣組織中に残存し、精原細胞数の減少が認められた。一方、急性照射 28 日後には、組織像が回復し、精原細胞数も非照射状態にまで回復した。これらより、p53 変異精巣における精巣卵誘導は、線量率の低い慢性放射線による影響がより顕著であることが明らかとなった。

これまでに、野生型メダカ精巣において、高線量ガンマ線による急性照射によって精巣卵は誘導されないことが報告されていた。本研究においては、野生型成魚に対して分割照射（0.5 Gy  $\times$  5 または 10 日間）を施し、放射線照射終了直後に組織像を確認したところ、組織断面にごくわずかではあるが精巣卵が誘導されることを初めて明らかとした。精巣卵の分子マーカーとして利用されている卵巣特異的な遺伝子である 42Sp50 遺伝子について確認したところ、野生型精巣においても分割照射直後に発現上昇することを明らかとした。

第 3 章においては、低線量（50 ~500 mGy）のガンマ線 ( $^{60}\text{Co}$ ,  $^{137}\text{Cs}$ ) を野生型精巣および p53 変異精巣に分割照射もしくは急性照射してその影響を検討した。本研究における最低線量（50 mGy）によっても p53 変異精巣および野生型精巣において精巣卵が放射線照射 7 日後に誘導されており、メダカ精原細胞は放射線にたいして非常に高感度であることが明らかとなった。また、合計線量 500 mGy の低線量ガンマ線を 5 分割して p53 変異および野生型成魚に放射線照射し、組織像を観察したところ、放射線照射終了 28 日後においても精巣卵が精巣組織断面に確認され、低線量放射線によっても長期的に影響が持続する可能性を示唆した。

第 4 章においては、より詳細な精巣卵誘導の分子メカニズムの解明のため、p53 変異成魚に対して、高線量ガンマ線急性照射（合計線量 5 Gy）、高線量ガンマ線による分割照射（合計線量 5 Gy, 10 分割）および低線量ガンマ線による慢性照射（合計線量 100 mGy, 7 日間連続照射）の 3 種の照射法を実施し、精巣組織の RNA シーケンスによる遺伝子解析を行った。卵形成関連遺伝子に着目したところ、卵膜タンパクをコードする遺伝子群（ZP family）が高線量分割照射後 3 日において高く発現が誘導されており、比較的初期から精巣卵が卵として分化することが明らかとなった。また、高線量ガンマ線による急性照射、分割照射では幹細胞維持に関わる nanos2/3 遺伝子が抑制されており、放射線によって幹細胞維持が抑制されることが示唆された。また、3 種の照射法に共通して発現していた遺伝子が 9 つ挙げられたが、ZP family の一つである zpc1 遺伝子が含まれていたことから、放射線誘導性精巣卵の分子マーカーとしては zpc1 遺伝子を候補としてあげられた。今後、一細胞レベルでの RNA シーケンスによる遺伝子解析や、本研究で明らかとした放射線によって発現が変動した遺伝子を利用した in situ hybridization によって、精原細胞における精巣卵誘導の詳細な分子メカニズムの解明が期待される。

以上にしたがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

以上 1,680 字