

高圧環境 (31 ATA, He-O₂) 曝露後のラットの繁殖機能

他谷 康^{*1} 中野正美^{*1} 水嶋康男^{*1}
設楽文朗^{*1} 関 邦博^{*1} 中山英明^{*2}

4名のダイバーを深度300mで14日滞在させたシミュレーション実験で、ダイバーに著しい影響のないことは、すでに明らかであり、また、性に対する欲求については、なんら変化ないことがダイバーの内観報告から明確となっている。本実験では、31 ATA, He-O₂の高圧環境で5～7日間ラットを曝露し、ラットの繁殖機能におよぼす影響を検討した。その結果、高圧曝露の雌ラットで、約半数に性周期に変動が認められた。しかし、減圧後にも、性周期に変動が認められなかったラットでは、正常な交配および受胎が認められた。また、加圧に伴う影響として、性周期に1日の遅延が認められたラットについても、その後の正常性周期への回復によって、正常な繁殖能力が認められ、生まれた仔には性出現の割合、産子数も正常であり、奇形も認められなかった。この子孫の繁殖機能も異常が認められなかった。

The Reproductive Function of Rats after Exposure to a Hyperbaric Environment (31 ATA, He-O₂)

Yasushi Taya^{*3}, Masami Nakano^{*3}, Yasuo Mizushima^{*3}
Fumiroh Shidara^{*3}, Kunihiro Seki^{*3}, Hideaki Nakayama^{*4}

Four divers simulated dives to a depth of 300 m for 14 days, and this experiment showed that there is no remarkable effects on divers or no deficits on sexual desires through self-reporting.

The present study deals with the effects produced on the reproductive functions of rats exposed for 5–7 days to 31 ATA (Heliox).

The results indicated that after exposure, about one half of the female rats experienced changes in the duration of their estrus cycle. After decompression, the females that did not undergo changes were normally mated and fertilized. Those effected by compression showed a one day delay in their estrus cycle. Thereafter, the normal estrus cycle was restored and they could be normally fertilized. The offspring of exposed rats were normally born. Sex ratio and litter size were found to be normal, and no deformed offspring were born. Post dive studies indicated that both male and female offspring of exposed rats had normal reproductive functions.

*1 潜水技術部

*2 産業医科大学 (元 潜水技術部)

*3 Manned Undersea Science and Technology Department

*4 School of Medicine, University of Occupational and Environmental Health (Formerly Manned Undersea Technology and Engineering Department)

1. はじめに

飽和潜水技術の開発とともに、高圧環境下の生体の生理学的、心理学的研究は数多く行なわれ、その結果、1980年から1981年にかけて、スイス、英国、米国では、深度575 m, 660 m, 686 mの有人潜水シミュレーション実験¹⁾に成功している。

特筆すべきことは、米国のデューク大学で686 mで24時間、650 m以深に7日、また、600 m以深で11日滞在という、長期間にわたる実験であった。

当センターでも、1978年および1979年の2回にわたる深度300 mの有人潜水シミュレーション実験で、生体に著しい影響のないことが明らかとなり、安全な潜水作業が実施できること²⁾がわかった。同時に、性に対する欲求についても、なんら常圧と変化ないことは、ダイバーの内観報告から明らかとなっている。

しかし、これらの高圧環境に曝露された生体の生殖器官におよぼす影響についての報告は少ない。また、今後、さらに増加するであろう婦人ダイバーに対する高圧環境の影響についての報告が特に少ない。

1973年、Brennanら³⁾は、コマーシャルダイバーや海軍のダイバーの家族には、女兒の出産が著しく多いことに注目し、マウスを用い、深度60 m (N_2-O_2)環境下で、28日飼育し、減圧後、交配実験を行った結果、10%近い雌の増加がみられたことを報告している。さらに1974年の報告⁴⁾では7ATAと4ATAで実験を行い、その結果も前者と同様、雌の仔が多く生まれる傾向があり、しかも、この実験では4ATA曝露群で、産子数の減少があったことも報告している。しかし、これらの原因は、まだ明らかではない。

また、Kennedyら⁵⁾(1975)の報告では、幼若ラットを用い、21ATA高圧He- O_2 環境下で、長期間飼育した場合、体重および副生殖器官の重量の減少、ならびに成長ホルモンの活性低下がみられたが、甲状腺や精巣には組織学的な異常は認められなかったと報告している。しかし、高圧He- O_2 環境下に曝露された生体の繁殖機能については、まだ検討されていない。

本実験では、31ATAの高圧He- O_2 環境下で雌雄のラットを曝露し、減圧後、ただちに交配させ、繁殖機能を検討した。また、この結果、生まれた第1世代(F_1)の奇形の有無、雌雄の性出現の比率ならび

に生殖機能についても合わせて検討した。

2. 材料および方法

使用した実験動物は、温度 $25 \pm 1^\circ C$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、12L-12Dの照明条件下で飼育した11~13週令、体重250~300 gのWister-Imamichi Rat(動物繁殖研究所作出)の雌雄である。実験に先立ち、雌は毎朝9時~10時に陰垢を採取し、正常な4日の性周期を2回以上繰返したラットだけを用いた。

実験は4回に分けて行った。加圧速度20 m/hrで300 mに加圧したのち、4~7日間、温度 $32 \sim 33.5^\circ C$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、12L-12Dの照明条件下で飼育した。また、このときの気相条件は、酸素1.29% ($P_{O_2} = 0.4 \text{ atm}$)、窒素2.58% ($P_{N_2} = 0.8 \text{ atm}$)、ヘリウム96.13% ($P_{He} = 29.8 \text{ atm}$)とした。その後、約19時間かけて減圧し、減圧後、ただちに下記の実験群に分けて雌雄のラットを1夜だけ同居させ、その後、性周期の変動ならびに繁殖機能について検討した。また、性周期に変動の認められたラットも、その性周期の回復を待って交配実験を行った。高圧曝露群で生まれた仔(F_1)は常圧下の飼育室で性成熟を待って兄妹交配させ、その繁殖機能を検討した。

<実験群>

- I 高圧曝露 ♂ (2匹) + 高圧曝露 ♀ (4匹)
- II 高圧曝露 ♂ (2匹) + 常圧下飼育 ♀ (4匹)
- III 常圧下飼育 ♂ (2匹) + 高圧曝露 ♀ (4匹)
- IV 常圧下飼育 ♂ (2匹) + 常圧下飼育 ♀ (4匹)

3. 結果および考察

3.1 第1回目(Proteus-I)の実験

このときのダイブプロファイルを図1、また、その結果を表1に示す。

本実験では加圧前からラットの状態が悪く、特に雄が顕著であり、予定していた実験群を変更し、交配実験を行った。

表1に示すように高圧曝露群(I群)では、4例中1例であるが妊娠が認められる。また、正常な妊娠期間を経て分娩が認められ、生まれた仔(F_1)には視察では奇形は認められなかった。

高圧曝露の雌と常圧下で飼育しておいた雄との交配実験群(II群)でもI群と同様な結果であり、高圧曝露の雌には性周期の遅延が認められた(表5参照)。しかし、本実験では対照群も4例中2例で妊

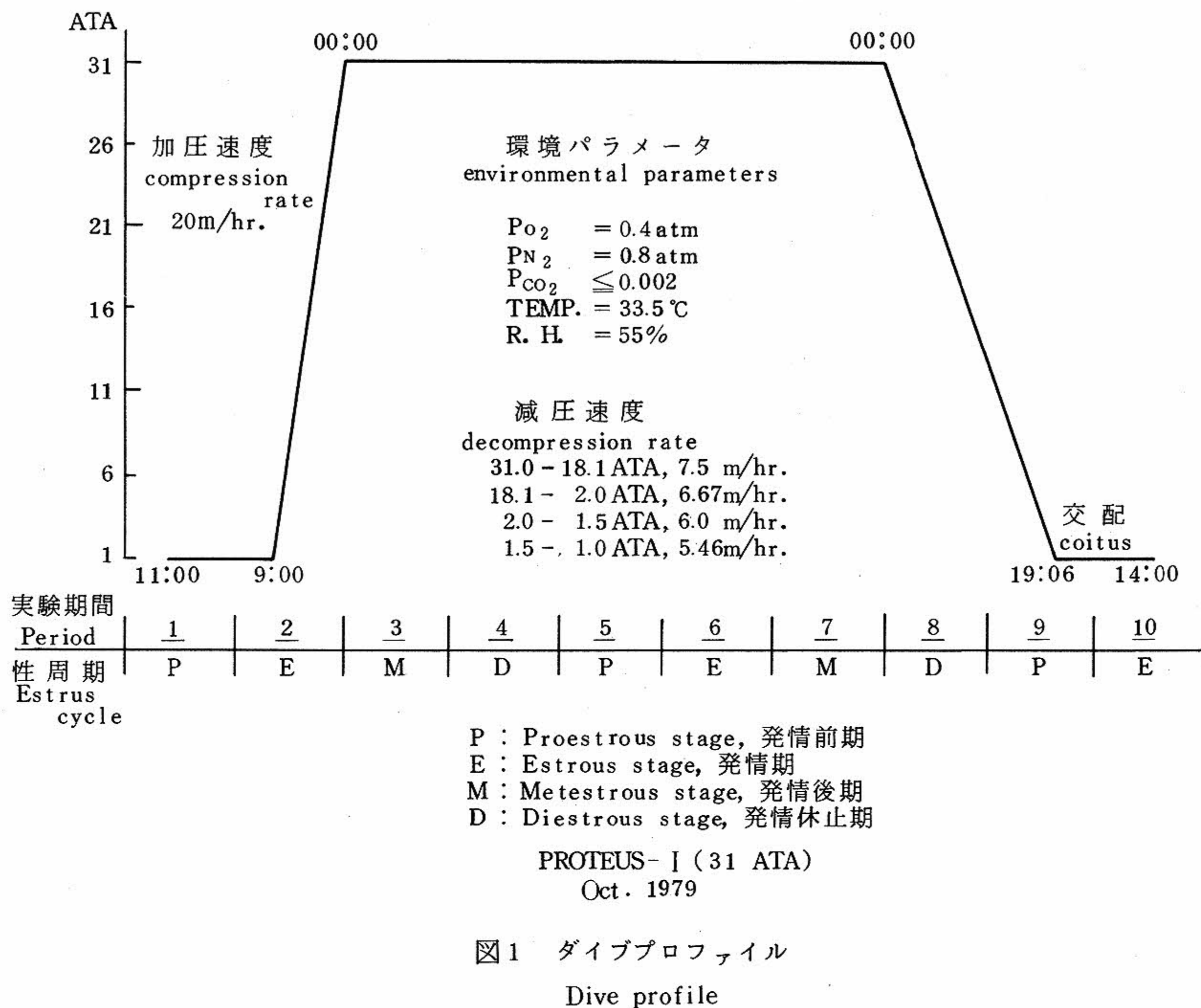


表1 ラットの妊娠とその産子数に対する高圧環境の影響

Influence of hyperbaric environment on the pregnancy and litter size
in the rat

実験群 exp. group	妊娠数 pregnancy	分娩数 delivery	産子数 litter size	雄 male	雌 female
I (31 ATA ♀ + 31 ATA ♂)	1/4	1/4	7	2	5
II (31 ATA ♀ + 1 ATA ♂)	1/4	1/4	11	7	4
III (1 ATA ♀ + 1 ATA ♂) CONT.	2/4	2/4	12 14	6 8	6 6

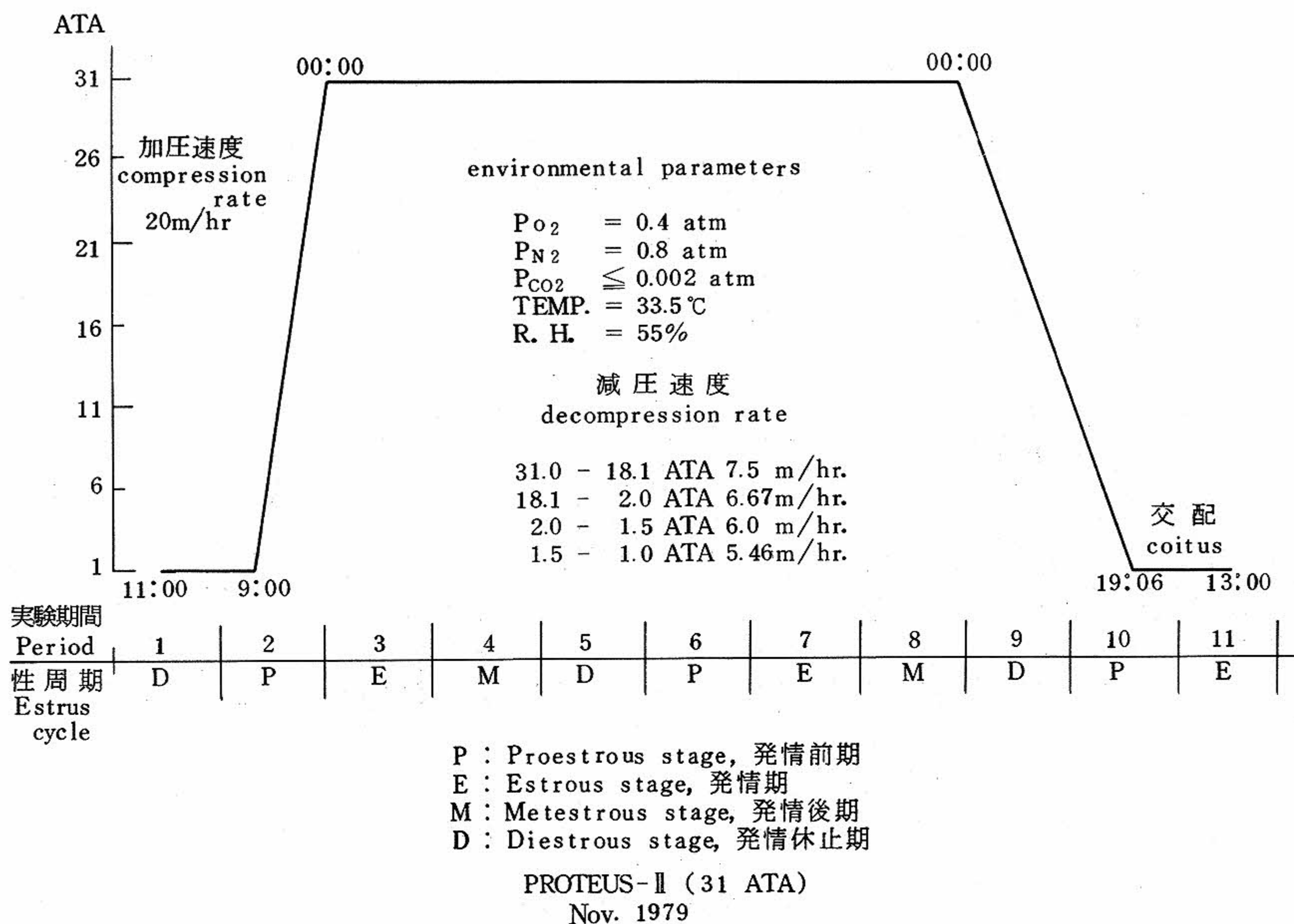


図2 ダイブプロファイル
Dive profile

表2 ラットの妊娠とその産子数に対する高圧環境の影響
Influence of hyperbaric environment on the pregnancy and litter size
in the rat.

実験群 exp. group	妊娠数 pregnancy	分娩数 delivery	産子数 litter size	雄 male	雌 female
I (31 ATA ♀ + 31 ATA ♂)	1/4	1/4	12	6	6
II (31 ATA ♀ + 1 ATA ♂)	2/4	2/4	7 6	4 3	3 3
III (1 ATA ♀ + 31 ATA ♂)	2/4	2/4	10 15	6 7	4 8
IV (1 ATA ♀ + 1 ATA ♂) CONT.	4/4	3/4	9 13 14	4 7 6	5 6 8

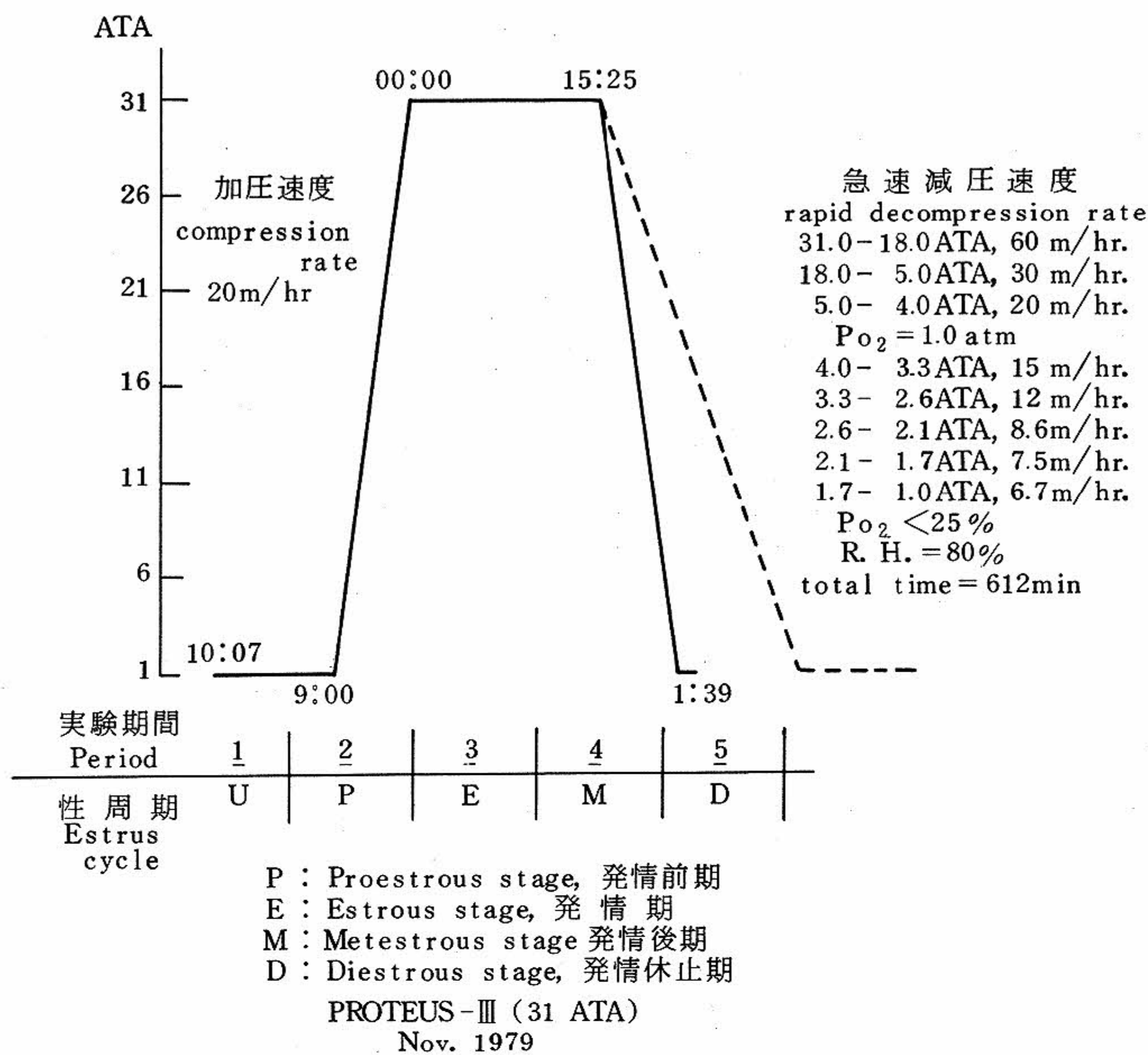


図3 ダイブプロファイル
Dive profile

表3 ラットの妊娠とその産子数に対する高圧環境の影響

Influence of hyperbaric environment on the pregnancy and litter size
in the rat.

Proteus-Ⅲ (Nov. 1979)

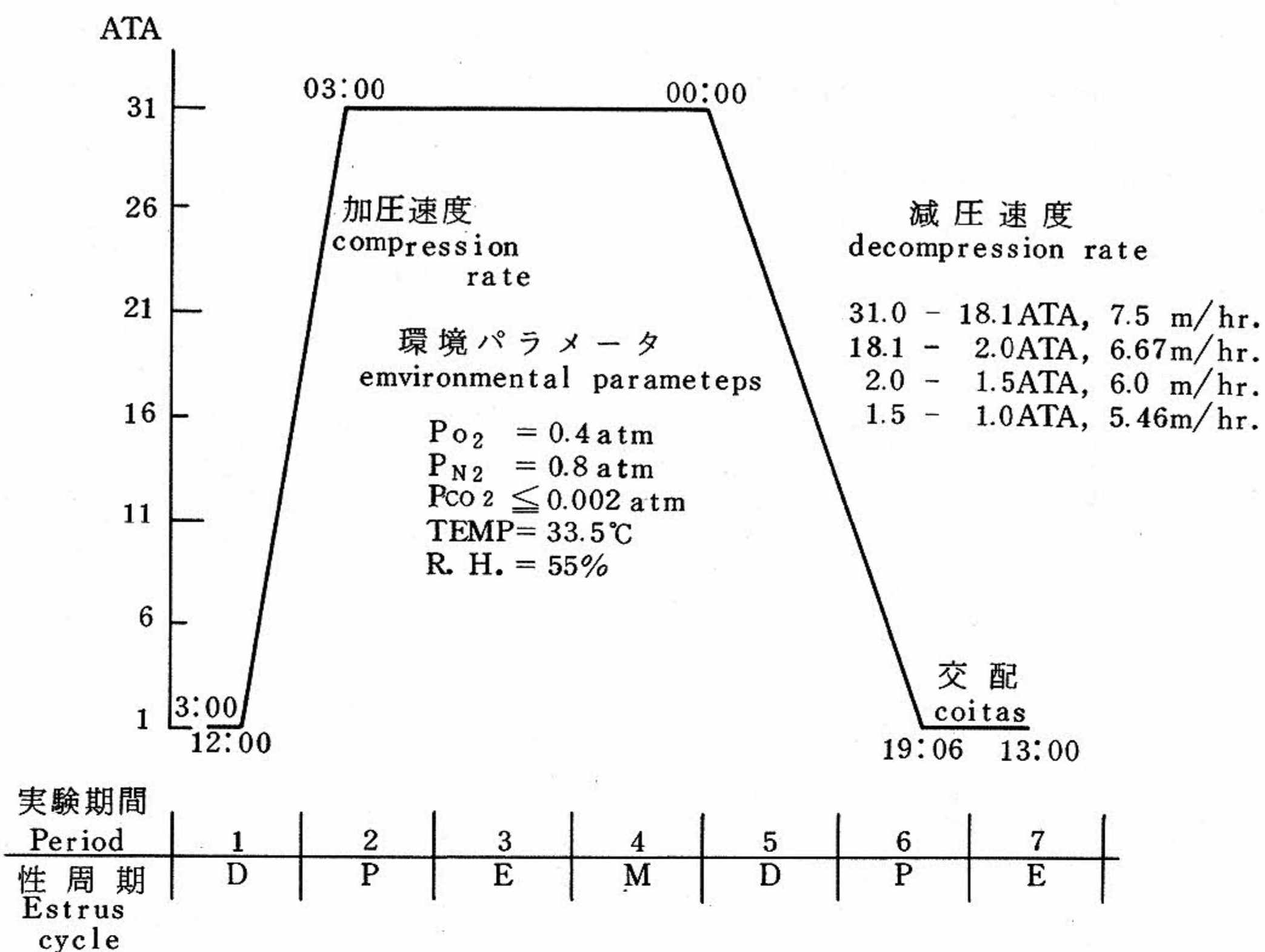
実験群 exp. group	妊娠数 pregnancy	分娩数 delivery	産子数 litter size	雄 male	雌 female
I* (31 ATA ♀ + 31 ATA ♂)	6/7	5/7	13 10 14 11 —	6 5 7 4 —	7 5 7 7 —
II** (31 ATA ♀ + 31 ATA ♂)	1/1	1/1	9	4	5

* ; 減圧後の2回目の正常性周期時に交配

** ; 減圧後の4回目の正常性周期時に交配

* ; Coitus at second estrus cycle after decompression.

** ; Coitus at fourth estrus cycle after decompression.



P : Proestrous stage , 発情前期
 E : Estrous stage , 発情期
 M : Metestrous stage , 発情後期
 D : Diestrous stage , 発情休止期

PROTEUS-IV (31 ATA)
 Dec. 1979

図4 ダイブプロファイル
 Dive profile

表4 ラットの妊娠とその産子数に対する高圧環境の影響

Influence of hyperbaric environment on the pregnancy and litter size
 in the rat.

Proteus-IV (Dec. 1979)

実験群 exp. group	妊娠数 pregnancy	分娩数 delivery	産子数 litter size	雄 male	雌 female
I (31 ATA ♀ + 31 ATA ♂)	2/4 1/2*	2/4 1/2*	10 14 4*	6 6 3	4 8 1
II (31 ATA ♀ + 1 ATA ♂)	2/4 2/2*	1/4 2/2*	12 11* 11*	6 6 6	6 5 5
III (1 ATA ♀ + 31 ATA ♂)	2/3 1/1*	1/3 1/1*	11 3*	6 2	5 1

* ; 減圧後の4回目の正常性周期時に交配

* ; Coitus at fourth estrus cycle after decompression.

娠率が低く、高圧環境の影響について考察することは困難であった。

3.2 第2回目 (Proteus - II) の実験

このときのダイブプロファイルを図2, またその結果を表2に示す。

本実験では各実験群ともに繁殖能力は認められた。しかし、高圧に雌雄ともに曝露したI群が25%で最も低く、II群およびIII群は50%であった。この結果は第1回目の実験と同じ傾向であった。

また、高圧環境における、なんらかのストレス性の要因が雌雄に作用していると考えられる。このことは実験中の視察による行動観察などでも、常圧時の活動性に比して、31ATA保圧時にはその低下が認められ、毛繕い、摂食、飲水などの行動の減少やHeガス環境によると思われる立毛状態が雌雄のラットに観察されたことから推察される。

産子数は、II群が他の群に比して、若干少ない傾向がある。この点は、排卵数が少なかったのか、その後の着床、または流産によったものか、今後、さらに検討する必要がある。しかし、生まれた仔には奇形は認められず、性出現の比率についても、有意な差は認められなかった。

3.3 第3回目 (Proteus - III) の実験

このときのダイブプロファイルを図3, またその結果を表3に示す。

本実験ではケージ移動装置の故障があり、31ATAでの保圧時間は39時間であった。

図3に示した急速減圧によって常圧に復帰したラットには、減圧症を示す徴候は認められなかったが性周期に変動が認められた(図5参照)。

正常な4日の性周期の回復を待って2周期目と4周期目に行った交配実験では、1例に偽妊娠が認められた以外は、いずれも正常な繁殖機能を示し、生まれた仔は視察では奇形は認められなかった。産子数ならびに性出現の比率についても有意差は認められなかった。

3.4 第4回目 (Proteus - IV) の実験

このときのダイブプロファイルを図4, また、その結果を表4に示す。

本実験ではI群の成績が最も良く、4例中2例が減圧直後の交配で妊娠し、産子数も正常で仔にも奇形は認められなかった。II群およびIII群では4例中2例、3例中2例に交尾行動が認められたが、い

れも1例だけが正常な妊娠、分娩を示し、他のラットは偽妊娠であった。

そこで、本実験では、減圧直後、交配しなかったラットならびに偽妊娠ラットについて、性周期の回復を待ち、同様の実験群において交配実験を行った。その結果、I群は2例中1例、また、II群およびIII群はすべて正常な繁殖機能が認められた。

しかし、産子数については、これらのラットの分娩時が飼育室の移動と重なり、ストレスによる影響から仔を食殺しており、正確な数を確認することはできなかった。生まれた仔には各群とも奇形は認められなかった。

3.5 高圧曝露ラットを両親に持つF₁における交配実験

この実験結果を表5に示す。

Proteus - I, IIIおよびIVで生まれたF₁における兄妹交配では、いずれもすべてのラットに正常な繁殖機能が認められ、産子数ならびに性出現の割合も正常であった。

このことは、高圧曝露ラットの繁殖機能ならびにF₁の奇形等の視察による評価を裏づけるものであり、本実験における高圧環境はラットの繁殖機能、特に成熟卵胞および精子には影響なかったものと推察される。しかし、卵子成熟過程ならびに精子形成過程での高圧環境の影響については、今後、さらに検討する必要がある。

妊娠率の低下については、表5からも明らかなように、Proteus - Iで5/7, Proteus - IIで5/8, Proteus - IIIで7/8, またProteus - IVでは7/8例に、性周期に変動が生じたためと考えられる。

このことは、減圧後の交配時期が正常な性周期では発情前期となるが、この時期が1日遅れたため、雄ラットとの交配ができなかったことを裏づけている。この性周期の変動に拘わってくる要因としては数多くの報告⁶⁾があり、すべての環境因子が上げられている。本実験においても常圧では飼育室の環境で制御しているが、高圧He-N₂-O₂の特殊環境では、圧力だけでなく、環境ガスや温度、湿度の問題また騒音や臭気といった問題が、互いに複雑に絡み合って影響していると考えられ、今後、これらの点についても検討していく必要がある。

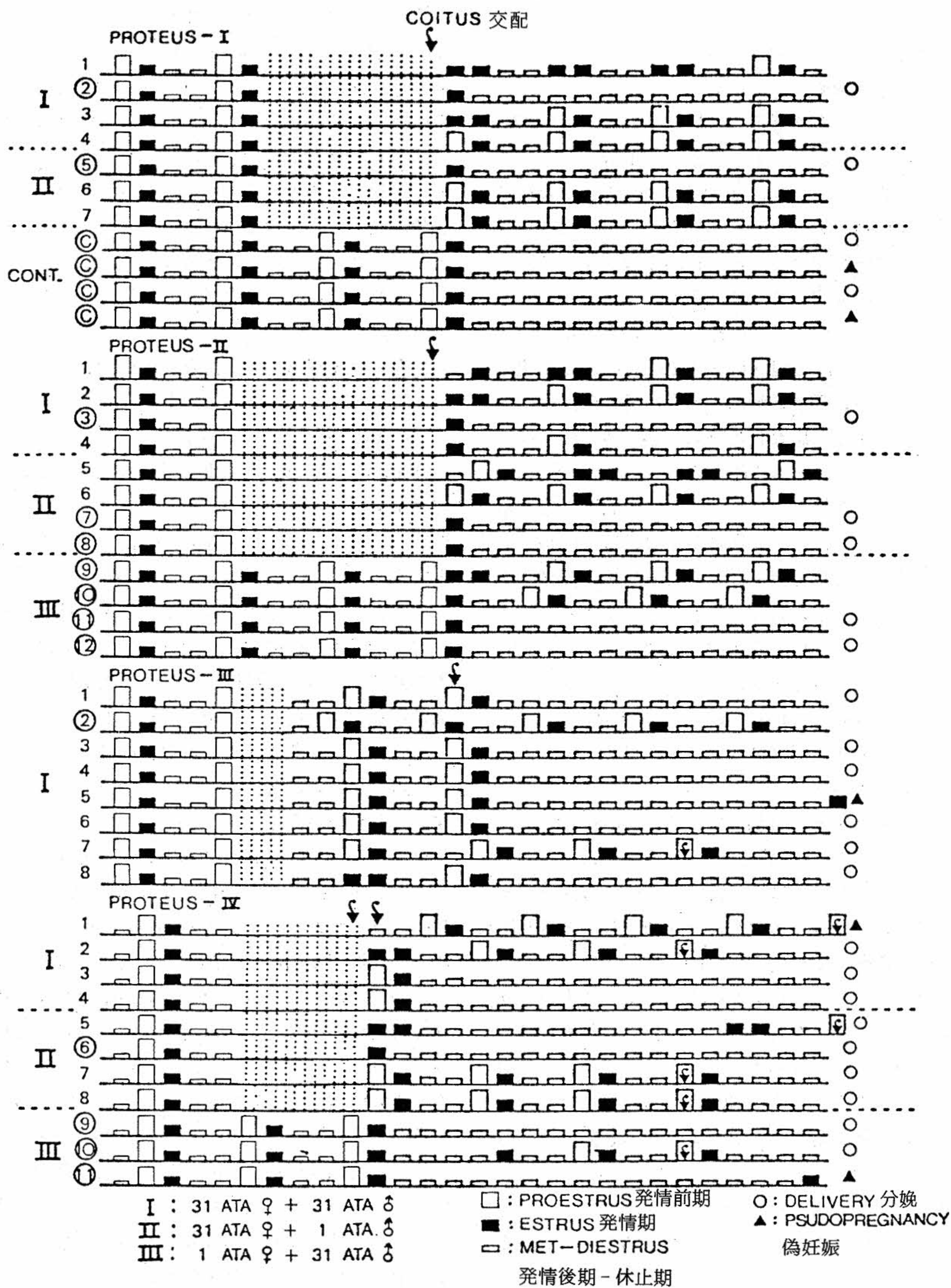


図5 実験期間中の膣垢像の周期変化
Cyclic change of vaginal smear

表5 高圧曝露ラットの第1世代(F₁)における妊娠数とその産子数

Number of the pregnancy and litter size in the hyperbaric exposure rat(F₁)

Proteus-I, III, およびIV (Mar. 1980)

実験群 exp. group	妊娠数 pregnancy	分娩数 delivery	産子数 litter size	雄 male	雌 female
proteus — I	3/3	3/3	9 7 6	3 5 3	6 2 3
proteus — III	5/5	5/5	14 14 12 11 7	7 8 7 4 4	7 6 5 7 3
proteus — IV	5/5	5/5	16 13 12 11 11	8 6 6 5 5	8 7 6 6 6

4. まとめ

高圧(31 ATA) He-O₂ 環境下で, 4~7日, 雌雄のラットを曝露し, 減圧後, ただちに交配を行い, その繁殖機能について検討した。また, 高圧曝露ラットを両親に持つF₁について, その繁殖機能について検討した。

高圧曝露後, 雌ラットは正常な4日の性周期が維持されたラットだけ妊娠が認められ, 妊娠率は25~50%であった。性周期に変動が認められたラットは性周期の回復を待って行った交配では, 正常な繁殖機能が認められた。

雄ラットは高圧曝露において, 摂食, 摂水などの活動性の低下が見られた。しかし, 上述の減圧直後の交配実験では正常な繁殖機能が認められた。

また, 産子数ならびに雌雄の割合は対照群との有意差は認められなかった。

このF₁については性成熟を待って行った交配実験で, 正常な繁殖機能が認められ, 本実験の高圧環境は, ラットの繁殖機能には, ほとんど影響ないものと推察された。

しかし, 雌ラットにおける性周期の変化などに関わってくる物理的環境因子が, ラットの内分泌機能になんらかの影響を与えていることは確かであり, 今後, さらに検討する必要がある。

文 献

- 1) Anonymous, 1981. "U. S. BRITISH SWISS

dives yield data and records. PRESSURE

10 (2), 3-4.

- 2) 潜水作業技術の研究開発, 成果報告書 2/2 (1980) P1~107, JAMSTEC
- 3) BRENNAN, D.M. A., S.J. BRUMLEVE, S. S., 1973, "Alteration of offspring sex ratios in mice after air divers to an equivalent of 198 feet seawater.", Proc. N. Dakota Acad. Sci. 27 (1), 5.
- 4) BRENNAN, D.M. A., BRUMLEVE, S. T., "Sex ratios of laboratory rodents exposed to hyperbaric N₂-O₂." In: Aerospace Medical Association. Preprints, 1974 Annual Scientific Meeting, (1974) P 199-200., Washington, D. C. published by the Association.
- 5) KENNEDY, C. J., J. N. BOELKINS, J. N., MATTHIES, D. L., "Effect of continuous long-term hyperbaric He-O₂ exposure on endo-crine function of rats." In: Aerospace Medical Association. Preprints, 1975 Annual Scientific Meeting (1975) p. 117-118, Washington, D. C. published by the Association.
- 6) 田嶋嘉雄, 実験動物学総論 (1970) p. 151-184, 朝倉書店