

## 重粒子線の生物学的効果比と潜在性致死損傷からの回復

川崎祥二 澁谷光一 浅海淳一<sup>1)</sup> 小松めぐみ<sup>2)</sup>  
黒田昌宏<sup>2)</sup> 平木祥夫<sup>2)</sup> 古澤佳也<sup>3)</sup>

### 要 約

150KV X線, 中性子線及び炭素線 (LET13, 20, 50, 90, 140, 150, 153, 200keV/ $\mu\text{m}$ ) を照射したマウス NIH3T3 細胞の生存率曲線の LD<sub>10</sub> から <sup>60</sup>Co  $\gamma$  線に対する生物学的効果比 (RBE) を求めた。RBE は150KV X線では1.26, 中性子線では2.44, 炭素線 (LET13, 20, 50, 90, 140, 150, 153, 200keV/ $\mu\text{m}$ ) ではそれぞれ1.41, 1.47, 2.22, 2.61, 1.61, 2.05, 1.57であった。LET と RBE の関係では100 keV/ $\mu\text{m}$  付近にピークを認めた。150KV X線の LET は13keV/ $\mu\text{m}$ , 中性子線の LET は70keV/ $\mu\text{m}$  に相当した。

<sup>60</sup>Co  $\gamma$  線の潜在性致死損傷からの回復 (PLDR) は大きかった。炭素線 (13keV/ $\mu\text{m}$ ) 照射でも PLDR が観察されるが LET が大きくなると PLDR は減少したが, LET90keV/ $\mu\text{m}$  の炭素線でも PLDR が認められた。

照射時の細胞状態の検討では増殖期の細胞の感受性は定常期細胞に比し僅かに高かった。

---

キーワード: PLDR, RBE, Heavy-ion Radiation, NIH3T3 Cells

---

### 目 的

重粒子線は癌の放射線治療で体内での物理学的線量分布が優れていることから, 有効な治療成績が得られることが期待されている放射線である。本邦で最初の重粒子線治療専用装置として放射線医学研究所に設置された HIMAC で「重粒子線がん治療装置等共同利用研究」としての治療の生物学的な特徴の基礎的研究が進められている。体内へ入射した炭素線はその飛跡に沿って比電離 (線エネルギー付与: LET) が異なり, 生物学的効果に変化する。粒子線の bragg peak をいろいろな状態で組み合わせることによって優れた深部線量百分率を得ることができる<sup>1)</sup>。そこで, 飛跡に沿って変化する LET での生物学的効果を研究することは重粒子線の治療効果を検討する上で大切なこと

である<sup>2)</sup>。

放射線損傷からの回復の中で潜在性致死損傷からの回復 (PLDR), 亜致死損傷からの回復 (SLDR) は細胞の放射線に対する感受性を左右する因子の一つである, 放射線が高 LET になると SLDR, PLDR が小さくなるということがいくつかの細胞で報告されているが, HIMAC の炭素線の効果を観察することは粒子線治療で重要なことである<sup>3),4)</sup>。

マウス NIH3T3 細胞は X 線に対して大きな PLDR を示すことを観察しており<sup>5)</sup>, 本研究は NIH3T3 細胞を使用し, 炭素線並びに中性子線を照射し, 生存率曲線から低 LET の放射線 (X 線,  $\gamma$  線) と比較検討し生物学的効果比 (RBE) を求めた。また, その結果を基にいろいろな LET の炭

---

岡山大学医学部保健学科放射線技術科学専攻

1) 岡山大学歯学部歯科放射線学講座

2) 岡山大学医学部医学科放射線医学講座

3) 放射線医学研究所宇宙粒子線研究グループ

素線で PLDR の大きさを求めたので報告する。

材料及び方法

細胞 マウス線維芽細胞 NIH3T3細胞を使用した。培養液は Dulbecco's modified Eagle medium に10%仔牛血清 (Hyclon), 通常濃度のペニシリン, ストレプトマイシンを加えた。培養は 5% CO<sub>2</sub>+95% air の炭酸ガス培養器で培養した。細胞は10<sup>5</sup>/フラスコ (Falcon) で播種し, 7日後に plateau phase (G<sub>0</sub>) の細胞を作成し, また1%仔牛血清で4日間培養して G<sub>0</sub>細胞を作成した。

PLDR の測定 Plateau phase の細胞に放射線を照射し, 照射直後及び12時間後にトリプシン処理をし, 適当な細胞数を播種し生存率を求めた。

放射線は150KV X線, <sup>60</sup>Co γ線, 中性子線(放医研), 290MeV, 135MeV 炭素線 (LET13, 20, 50, 90, 140, 150, 153, 200keV/μm) (放医研 HIMAC) を使用した。

細胞の生存率 コロニー形成法を用いた。放射線を照射後適度な細胞数を播種し, 播種後8日に固定, 染色し50細胞以上のコロニーを計測し生存率

曲線を求めた。

実験結果及び考察

1 plateau phase 細胞における生存率曲線

plateau 細胞に放射線を照射し, 生存率曲線を求めた。図1に150KV X線, <sup>60</sup>Co γ線, 中性子線の生存率曲線を示している。<sup>60</sup>Co γ線に比較して, 150KV X線では曲線は急峻になり D<sub>0</sub>は小さくなった。中性子線の曲線では肩がなくなり, 曲線はより急峻になり D<sub>0</sub>は小さくなった。これらの曲線から LD<sub>10</sub>を求めると150KV X線では6.20 Gy, 中性子線では3.20Gyが得られた。

<sup>60</sup>Co γ線及び290MeV 炭素線の生存率曲線を図2に示す。LETが増加すると生存率曲線は急峻となり D<sub>0</sub>は小さくなった。しかしながら, LETが140keV/μmでは大きくなった。150, 153, 200 keV/μm (生存率曲線は示してない) でも D<sub>0</sub>は大きくなった。炭素線の生存率曲線から LD<sub>10</sub>を求めると, LET13, 20, 50, 90, 140keV/μmではそれぞれ5.55, 5.32, 3.52, 3.00, 3.00Gyであった。

2 細胞状態による感受性の比較

対数増殖期の細胞, 1%血清4日間培養 (G<sub>0</sub>期), 10%血清7日 (G<sub>0</sub>期) の細胞に290MeV 炭素

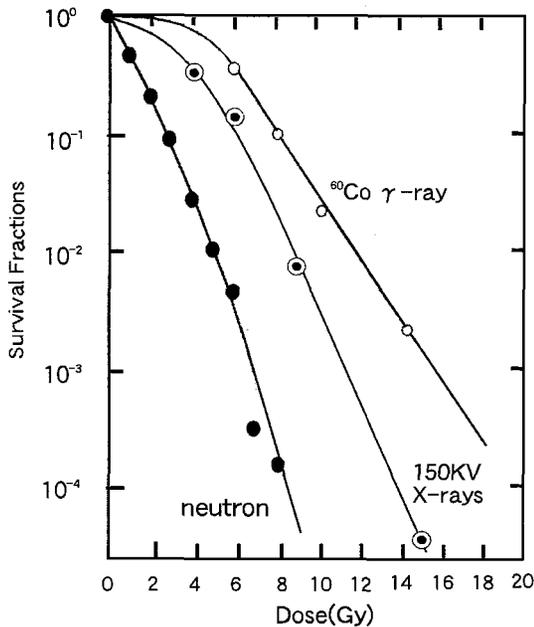


図1 NIH3T3細胞における<sup>60</sup>Co γ線, 150KV X線, 中性子線の生存率曲線

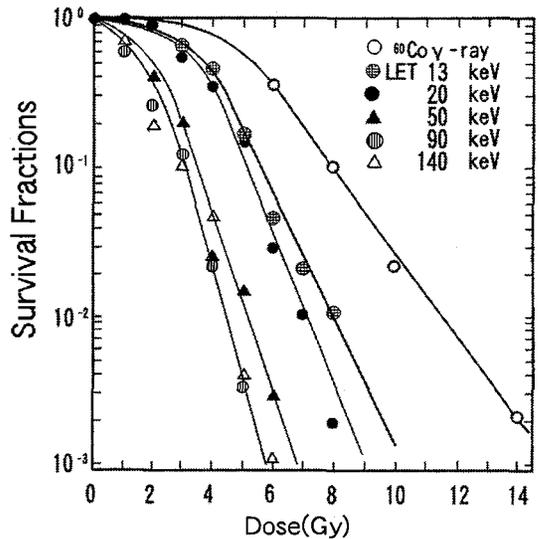


図2 炭素線 (LET13, 20, 50, 90, 140keV/μm) の生存率曲線

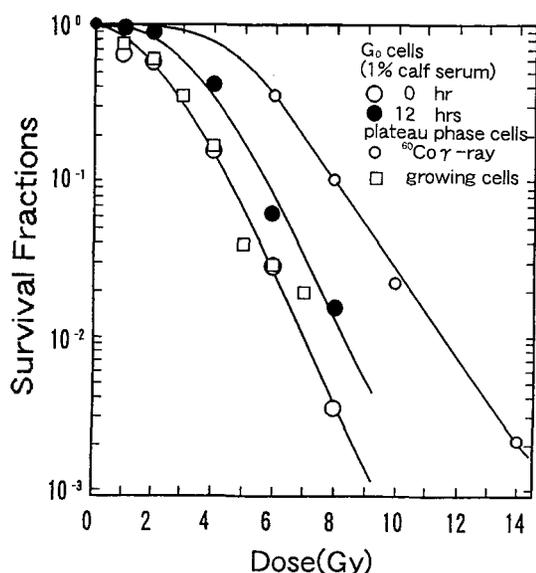


図3 培養状態の異なるNIH3T3細胞の炭素線 (LET20/ $\mu\text{m}$ ) の生存率曲線

線 (LET20keV/ $\mu\text{m}$ ) を照射し、生存率曲線を求めた。その曲線からLD<sub>10</sub>を求め、RBEを算出した(表1, 図3)。対数増殖期細胞は10%血清7日(G<sub>0</sub>期)に比し僅かではあるが感受性が高い。

### 3 各種LETの炭素線のRBE

得られた135MeV, 290MeVの炭素線, 中性子線, 150KV X線の生存率曲線からそれぞれの放射線のLD<sub>10</sub>を<sup>60</sup>Co  $\gamma$ 線のLD<sub>10</sub> (7.82Gy)と比較してRBEを算出した(表1)。算出されたRBEとLETの関係を図示すると図4のようになる。炭素線のRBEとLETの関係ではLET90keV/ $\mu\text{m}$ 付近でピークになり、それ以上では低下した。この図から算出すると150KV X線のLETは13keV/ $\mu\text{m}$ , 中性子線のLETは70keV/ $\mu\text{m}$ に相当することが認められた。

### 4 NIH3T3細胞のPLDR

plateau phase細胞(10%血清7日間培養)に<sup>60</sup>Co  $\gamma$ 線, 炭素線(LET13, 50, 90keV/ $\mu\text{m}$ )を照射した。トリプシンで処理を照射直後, 並びに12時間後に行い, 生存率曲線を求めた(図5)。照射直後に播種した生存率曲線は12時間後に処理した場合よりいずれの群でも下方に位置し, 照射後12時間にはPLDRがあることが認められた。

表1 線質の異なる放射線のD<sub>10</sub>とRBE

放射線の種類	D <sub>10</sub> (Gy)	RBE
<sup>60</sup> Co $\gamma$ -ray	7.82	1.00
150KV X-rays	6.20	1.26
neutron	3.20	2.44
carbon		
135MeV		
LET150keV	4.87	1.61
200keV	4.97	1.57
290MeV		
LET 13keV	5.55	1.41
20keV		
confluent	5.32	1.47
1% serum	4.50	1.74
growing	4.70	1.66
50keV	3.52	2.22
90keV	3.00	2.61
140keV	3.00	2.61
153keV	3.82	2.05

<sup>60</sup>Co  $\gamma$ 線では12時間後に播種した場合, 大きく右方に移動し, 大きなPLDRが認められた。LET13keV/ $\mu\text{m}$ の炭素線においてもPLDRが観察された。LETが大きい炭素線ではPLDRは小さくなった。しかし, LET90keV/ $\mu\text{m}$ においてもPLDRは認められた。

### 5 炭素線における照射後時間とPLDR

confluentの細胞に炭素線(LET13keV/ $\mu\text{m}$ )を8Gy照射し, 照射後経時的に生存率を観察した(図6)。照射後各時間の生存率を求めたPLDRは照射後4時間にplateauになった。<sup>60</sup>Co  $\gamma$ 線(15Gy)及び90keV/ $\mu\text{m}$ (5Gy)においてもPLDRを観察すると, その大きさは異なるが, 照射後4時間にplateauになる同様なPLDRが観察された。このことは線質の異なる放射線を照射しても, 照射後のPLDRはほぼ同様の曲線を示すと考えられる。そこで150KV X線, <sup>60</sup>Co  $\gamma$ 線並びに図5で示したいろいろなLETの炭素線の照射直後と12時間後の生存率曲線から, 照射直後の生存率曲線で同じ生存率 $1.6 \times 10^{-3}$ の線量で12時間後の曲線の生存率を求めその間のPLDRを推測し図示

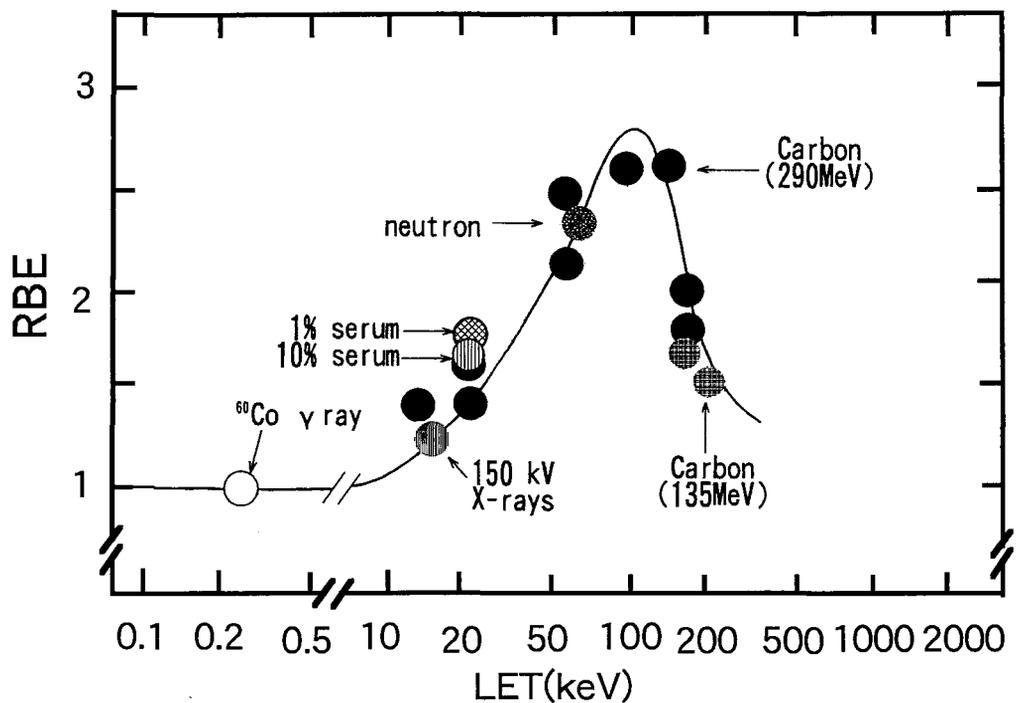


図4 線質の異なる放射線の線エネルギー付与 (LET) と生物学的効果比 (RBE) の関係

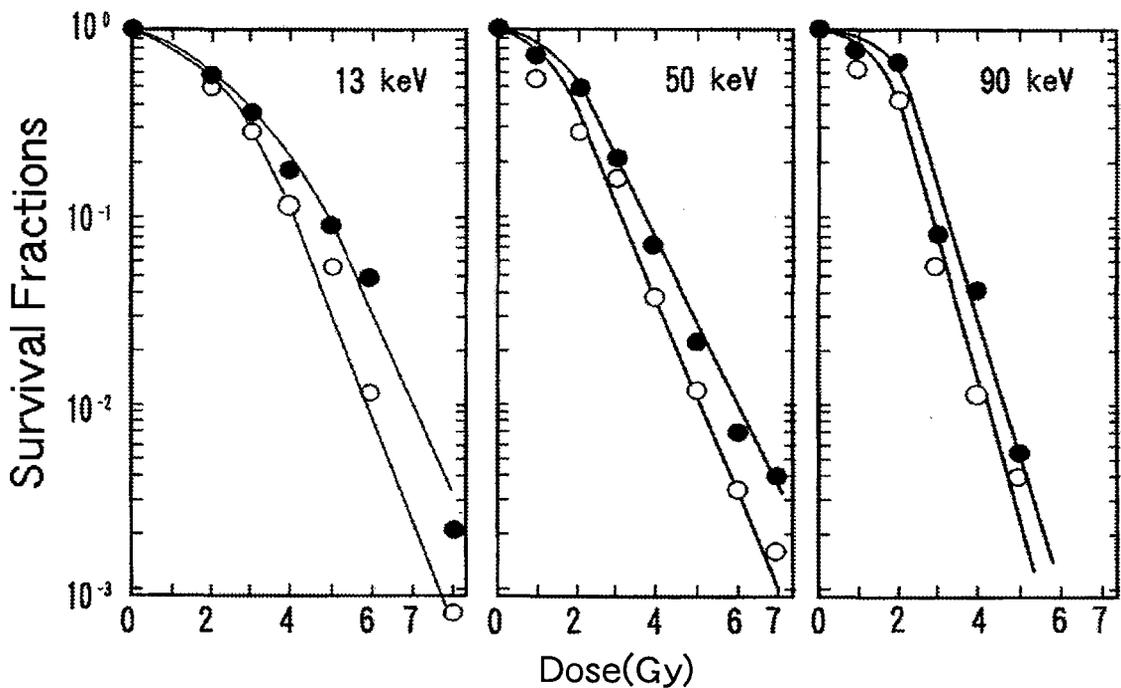


図5 炭素線 (LET13, 50, 90keV/μm) の照射直後 (○) 及び12時間後 (●) の生存率曲線

すると図7の点線のようになり、線質の異なる放射線の PLDR の大きさを比較した(図7)。その大きさは $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 線では大きく、LETが増加すると PLDRは減少した。図4に示したLETとRBEの関係でPeak値となるLET90keV/ $\mu\text{m}$ 炭素線の PLDRはかなり小さいながら認められた。また、neon線、Silicon線等の重粒子線でも PLDRの発現が観察されている<sup>6)</sup>。

ここで使用された炭素線はLETが単一のものでの実験であるが、実際、臨床での治療には単一のLETのものではない。すなわち、進入方向にある深度の幅を持つ様な高線量域の形成は異なる深度に peakを持つ(入射エネルギーが異なる)粒子を適当量混合することによって得られている。従って、このような場合、混合した状態での通過する部位での異なるLETの構成によって生物学的効果も各LETの構成割合によって、それぞれの効果の混合した結果となることが推察される。そのため、混合で作成された粒子線の正確な生物

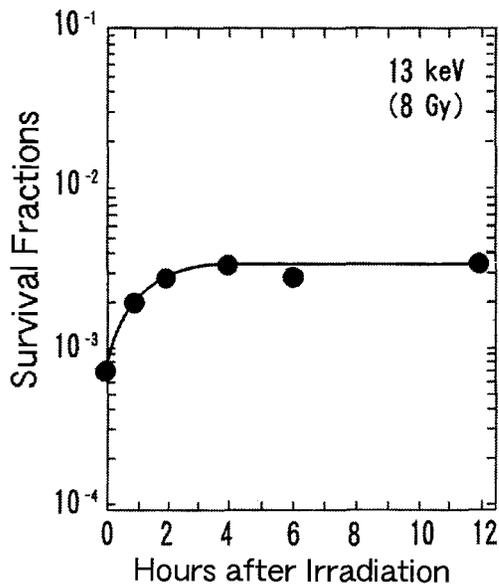


図6 炭素線 (LET13keV/ $\mu\text{m}$ ) 8Gy 照射後の潜在性致死損傷からの回復の経時的変化

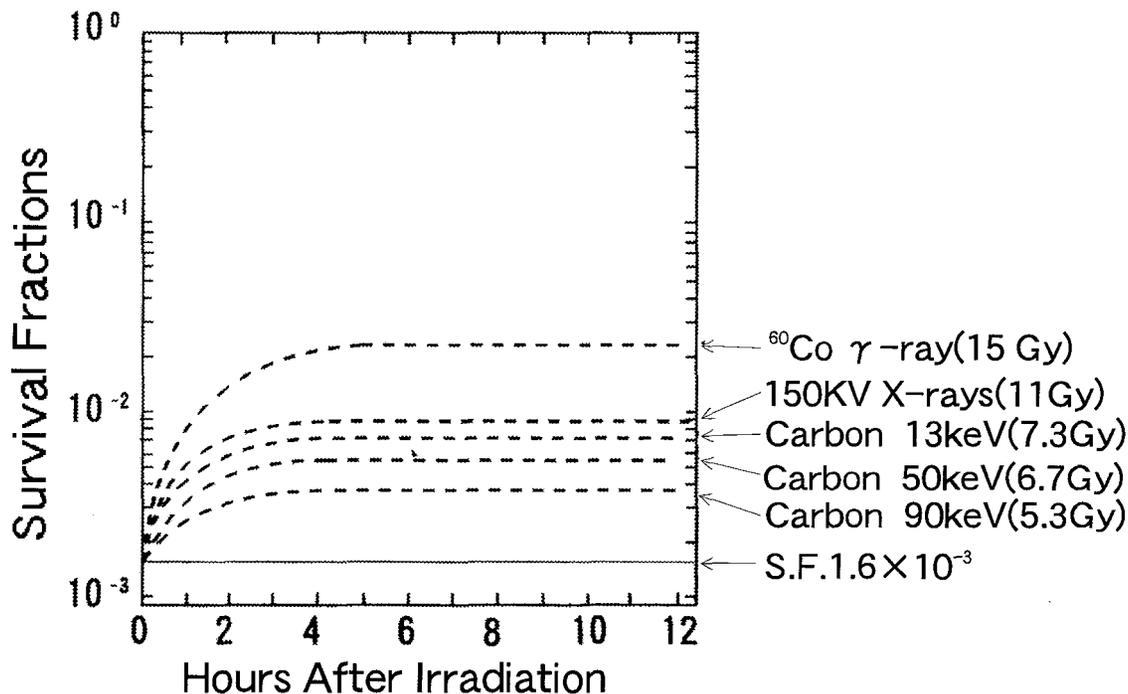


図7  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 線、150KV X線及び炭素線 (LET13, 56, 90keV/ $\mu\text{m}$ ) での生存率曲線の $1.6 \times 10^{-3}$ での潜在性致死損傷からの回復の大きさの比較

学的効果を解析するためにはいろいろな LET で  
の作用を明確にしておく必要がある。

### 文 献

- 1) 丸橋 晃: Bragg peak の物理. 日医放學誌付録  
58: 3-6, 1998.
- 2) 安藤興一: 粒子線治療の放射線生物学. 日医放學誌付  
録58巻: 7-10, 1998.
- 3) Blakey E A., Ngo FQH, Curtis SB and Tobias CA :  
Heavy-ion radiobiology; Cellular studies,  
Advances in Radiation Biology 11, (Lett JT., Eh-  
mann UK, Cox AB eds), Academic Press, 295-389,  
1984.
- 4) Saito M, Furusawa Y and Yamada T: LETdepend-  
ency of apoptosis and reproductive death on V79  
cells by heavy-ion beam. J Jpn Soc Ther Radiol  
Oncol 8: 121-126, 1998.
- 5) 川崎祥二, 佐々木功典, 長岡 栄, 中西 敬: NIH3T3  
細胞における PLDR 発現と細胞周期. 日本放射線影響  
学会抄録書: 174. 1986.
- 6) 川崎祥二, 澁谷光一, 高 献書, 黒田昌宏, 平木祥夫,  
古澤佳也: 重粒子線照射による放射線損傷からの回復  
に関する研究. 平成9年度放射線医学研究所重粒子線  
がん治療装置等共同研究報告書: 186-191, 1998.

(Original)

## Relative biological effectiveness(RBE) and potential lethal damage repair(PLDR) of heavy-ion beam

Shoji KAWASAKI, Koichi SHIBUYA, Junichi ASAUMI<sup>1)</sup>, Masahiro KURODA<sup>2)</sup>,  
Yoshio HIRAKI<sup>2)</sup> and Yoshiya FURUSAWA<sup>3)</sup>

### Abstract

Relative biological effectiveness(RBE) and repair of potential lethal damage(PLDR) of NIH3T3 cells against heavy-ion radiation were studied. RBE of 150 KV X-rays and neutron estimated from LD<sub>10</sub> dose of dose response survival curves compared to <sup>60</sup>Co  $\gamma$ -ray were 1.26 and 2.44, respectively. RBE of 13, 20, 50, 90, 140, 150, 153, 200 keV/ $\mu$ m of LET of carbon beam were 1.41, 1.47, 2.22, 2.61, 2.61, 1.61, 2.05 and 1.57, respectively.

Potential lethal damage repair(PLDR) after exposure to carbon beam was observed. The magnitude of PLDR of <sup>60</sup>Co  $\gamma$ -ray was the biggest. As for the carbon beam of LET of 13 keV/ $\mu$ m as well, PLDR were observed. PLDR decreased when LET of carbon beam grew big.

---

**Key Words :** PLDR, RBE, Heavy-Ion beam, NIH3T3 Cells

---

Faculty of Health Sciences, Okayama University Medical School

1) Department of Dental Radiology, Okayama University Dental School

2) Department of Radiology, Faculty of Medicine, Okayama University Medical School

3) Space & Particle Radiation Science Group, National Institute of Radiological Sciences