



Title	D-T中性子線の細胞致死作用における酸素およびブロクスウリジンの影響
Author(s)	増田, 康治; 脇坂, 信一郎; 長, 哲二 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1983, 43(7), p. 940-946
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19038
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

D-T 中性子線の細胞致死作用における酸素 およびブロクスウリジンの影響

九州大学医学部放射線基礎医学教室

増田 康治*¹ 脇坂信一郎*² 長 哲二*³ 吉永 春馬*⁴

(昭和57年9月14日受付)

(昭和57年10月25日最終原稿受付)

Radiosensitizing Effects of Oxygen and Broxuridine on Cultured Mammalian Cells Exposed to X-Rays and D-T Neutrons

Kouji Masuda¹⁾, Shinichiro Wakisaka²⁾, Tetsuji Cho³⁾ and Haruma Yoshinaga⁴⁾

Department of Experimental Radiology, Faculty of Medicine, Kyushu University

Present address:

1): Department of Radiology, Faculty of Medicine, Kyushu University

2): Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, Miyazaki Medical School

3): School of Health Sciences, Kyushu University

4): Saga Medical School

Research Code No.: 402.2, 600.4

Key Words: Cultured mammalian cells, X-rays, D-T neutrons, Oxygen, BUdR

The mouse fibroblast cells L5, cultured in 5 μ g/ml or 20 μ g/ml of broxuridine (BUdR), were exposed to D-T neutrons and X-rays with or without oxygen, and the surviving fractions of cells were estimated using colony forming ability as an end point. The oxygen enhancement ratio for D-T neutrons and for X-rays was relatively large when defined as the ratio of Do values of the survival curves and 10% survival doses. This ratio decreased not only for D-T neutron- but also for X-ray- irradiation with increasing the per cent survival used to determine the isoeffect doses (decreasing the dose range corresponding to clinically used single doses). The dose reduction factors of BUdR for D-T neutrons and X-rays were relatively large (around 2) when calculated using isoeffect doses in relatively low-dose range as well as in relatively high-dose range.

はじめに

著者らは、これまで放射線による細胞致死作用機構をあきらかにし、また放射線治療方法を改善する手がかりを得るために、速中性子線の培養哺

乳動物細胞に対する作用を検討してきた^{1)~3)}。その中には、中性子線の RBE, 酸素の増感係数, 線量率依存性, 亜致死の損傷の回復, 細胞周期依存性, X線との併用による作用などが含まれている。細胞致死作用を指標としたこれらの実験結果によると、速中性子線の作用には、X線の作用に比較して明確な質的ながいはみられなかった。しかし量的にはちがいがあり、中性子線照射の場

*1: 現在, 九大医学部附属病院放射線部

*2: 現在, 宮崎医科大学脳神経外科学教室

*3: 現在, 九大医療短期大学部

*4: 現在, 佐賀医科大学

合は単位線量当りの細胞致死作用が大きく、また物理的、生物学的な線量効果関係修飾因子の影響を受けにくかった。

ところで放射線治療において、種々の、作用機構のちがった増感剤を併用すると、副作用が少なくして、より大きな効果をもたらすと期待出来る。そこでこの論文では、中性子線照射における増感剤の作用について検討したので報告する。増感剤としては、これまでX線照射に関連して報告されているものの中で、増感係数が比較的に大きいBroxuridine (以下BUdRと呼ぶ)をとりあげた。BUdRの増感係数はメソトレキセートと併用すると濃度に依存するといえ、単独使用した時よりも高くなる⁴⁾。しかしここではBUdR単独の増感作用について検討した。

1. 材料と方法

細胞：実験には、すべてマウスの線維芽細胞からin vitroに株化されたL5細胞を用いた。継代培養は角型培養ビン中で、37℃に保ち、静置しておこなった。培養2～3日目の対数増殖期にある細胞を実験に供した。

培養液：実験に用いた培養液は、すべて20%の牛血清を添加したEagle MEMであった。継代培養には仔牛血清を用い、照射後の生存率判定のための培養には、牛胎児血清を用いた。

BUdR処理：培養液に、BUdRを最終濃度が5 μ g/mlあるいは20 μ g/mlとなるように溶かした。対数増殖期の細胞の培養液をこれと交換した。細胞の増殖曲線からみた倍加時間が24時間であったこと、ならびに予備実験の結果から、BUdRの増感係数は、48時間この細胞をBUdRで処理すると最も大きく、それ以上に処理時間を延長させても目にみえては大きくならなかったので、この実験では細胞はすべてBUdRで48時間処理した。対照群では、BUdRを含まない培養液と培地交換して、処理群と同じように培養した。

照射方法：BUdR処理の終了後、BUdRをふくまない培養液で2度洗浄してから単離細胞をえた。当初は0.1%のトリプシンをふくむ磷酸緩衝液で処理したが、BUdR処理群ではうまく単離細胞がえられなかったので、0.1%トリプシンと0.02%

EDTAをふくむ磷酸緩衝液で37℃10分間処理して、単離細胞をえた。

単離細胞の濃度を血球計算盤上で計数したのち、任意の濃度に培養液で稀釈し、細胞浮遊液を4 mlずつ試験管に入れた。この細胞浮遊液を37℃に保ち、毎分150mlの速度で5%の炭酸ガスをふくむ酸素ガス、あるいは窒素ガスを通気した。1時間通気してから、浮遊した細胞がガラス管壁に付着しないように、ガス分圧が変化しないように、そしてまた細胞の吸収線量が一定になるように、通気しながら37℃で照射した。照射する時は、トリプシン処理してから約1時間半経過していた。

放射線：X線は180kVp (h.v.l. = 1.02mmCu)線量率0.93Gy/分あるいは200kVp (h.v.l. = 0.93mmCu)線量率1.02Gy/分であった。この両者の線質と線量率のちがいは、生物作用には差はないとみなして、実験結果はプールして評価した。線量測定には鉄化学線量計を用いた。

中性子線照射には、D-T反応でえられる14MeV中性子線を用いた。加速管の前方に試験管を立てて照射した。線量評価には、加速管中に設置した α モニターによって、 α 粒子数を数え、それから細胞に当る中性子の数を計算によって求めた。中性子数から線量への換算係数として、 6.70×10^{-11} Gy/n/cm²⁵⁾を用いた。

判定：照射終了後、細胞浮遊液の一部をシャーレに移して生存率の判定をした。用いたシャーレは直径55mmのプラスチックシャーレで、5 mlの培養液で培養した。移植する細胞数は、生存細胞数がシャーレ当たりほぼ100個になるように調整した。しかしこの細胞ではこのシャーレ当たり 10^4 個以上の細胞を移植すると、照射線量など他の実験条件が同じでも、出来るコロニー数は減少する⁶⁾ので、照射線量が大きい場合でも、移植細胞数は 10^4 以上にはしなかった。

微炭酸培養器中で37℃に保ち、10～12日間静置培養したのち、コロニー数を数えた。コロニー当たり50個以上の細胞でできているコロニーを一個の生存細胞由来として、生存細胞数を求めた。細胞の移植率は、放射線照射してもしなくても変らな

いと仮定して、生存率を求めた。一つの実験点は少なくとも4枚のシャーレからえられた値の平均値である。シャーレ当りのコロニー数が少ない時には、より多くのシャーレを用いた。

2. 結 果

1) 中性子線照射における、酸素と BUdR との増感作用

Fig. 1 は、低酸素分圧、高酸素分圧、および BUdR で処理された細胞の高酸素分圧での生存率である。酸素分圧が低い時の線量効果関係は、片対数グラフ上でほぼ直線であった。酸素飽和状態での線量効果関係は、これまででも多く報告されている曲線と同様に、初め肩があるが次第に直線に近づく曲線である。BUdR 処理に関して、5 $\mu\text{g/ml}$ と 20 $\mu\text{g/ml}$ との2つの濃度の BUdR について検討したが、この濃度の差では、線量効果関係には大きな差はみられなかった。そこで両者の実験結果をあわせて、BUdR 処理群の生存率とみなした。

線量効果関係は、小さいけれども肩の存在を否定出来ない曲線であった。これらの線量効果関係は、いわゆる C-型の線量効果関係⁷⁾であるとして、

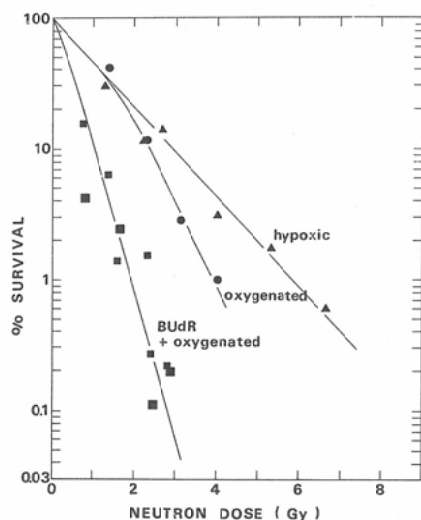


Fig. 2 Dose response curves for mouse fibroblast cells L5 exposed to X-rays under hypoxic (Δ) and well oxygenated conditions following the incubation with 0 $\mu\text{g/ml}$ ($\bullet$), 5 $\mu\text{g/ml}$ ($\blacksquare$) and 20 $\mu\text{g/ml}$ ($\blacksquare$) of BUdR for 48 hours.

Table 1. Parameters of the dose response curves for mouse fibroblast cells L5 exposed to D-T neutrons and X-rays, and the enhancement ratios of oxygen and BUdR

Treatment	Do (n)	
	D-T neutrons	X-rays
hypoxic	1.25 σ (1.0)	3.40 σ (1.0)
oxygenated		
BUdR (-)	0.70 (3.5)	1.05 (7.3)
BUdR (+)	0.38 (1.2)	0.55 (2.1)
OER*1	1.79	3.24
BUdR -ER*2	1.84	1.91

*1: oxygen enhancement ratio.

*2: BUdR enhancement ratio.

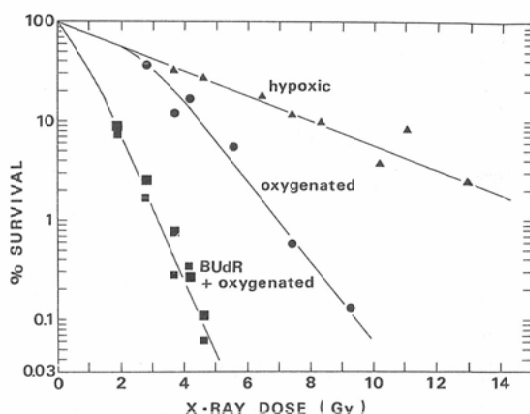


Fig. 1 Dose response curves for mouse fibroblast cells L5 exposed to D-T neutrons under hypoxic (Δ) and well oxygenated conditions following the incubation with 0 $\mu\text{g/ml}$ ($\bullet$), 5 $\mu\text{g/ml}$ ($\blacksquare$) and 20 $\mu\text{g/ml}$ ($\blacksquare$) of BUdR for 48 hours.

線量効果関係の係数を図から求めて、Table 1 にまとめた。

2) X 線照射における、酸素と BUdR との増感作用

中性子線照射における、酸素と BUdR との増感作用と比較するために、中性子線照射のときと同様の方法で X 線照射し、BUdR の増感作用をみた (Fig. 2)。X 線照射した時の線量効果関係の係数も同様に図から求めて、Table 1 にあわせて記した。

3. 考 察

中性子線照射した時も、X 線照射した時もともに、照射中に酸素があるとそしてまたあらかじめ

BUdR で処理しておく、細胞の生存率は低下した。また線量効果関係の係数 D_0 値は小さくなった。

線量効果関係修飾因子の修飾係数は、通常任意の効果（多くの場合、10%とか1%とか区切りのよい生存率での値が用いられ、その時の線量の大きさについては、何らの配慮もなされていない）に関して等効果線量の比、あるいはまた線量効果関係の係数 D_0 値の比であらわされている。しかしこれらの方法でえられた修飾係数は、臨床で通常用いられている一回線量（2.0Gy 前後）での修飾係数とはあまりにもかけ離れていることが少なくないので、放射線治療の立場からすると、必ずしもあまり重要ではない。

そこで、ここではこれにかわる方法として、通常治療に用いる線量での対照群における効果に関して、等効果線量の比を算定して用いた。これは等効果線量の比であるという点では従来の方法と同じであるが、臨床で観察されるであろう修飾係数により近いと思われる。

各生存率毎に等効果線量の比を図から求めた。さらにまた、通常治療に用いられる線量として、任意に2.0Gy をとりあげ、対照群での2.0Gy に対応する生存率をグラフ上から読みとり、何らかの処理群での同一の生存率をもたらすのに必要な線量を、またグラフ上から読みとった。比較的低線量での生存率は実験的にはえられていないが、内挿してグラフ上から読みとった。そしてその値の2.0

に対する比を計算した。Fig. 1 および Fig. 2 から修飾係数を算定して Table 2 に示した。

OER は、中性子線照射の時も、X 線照射の時も、生存率が上昇するにつれて、等効果線量の比は小さくなり1に近づいた。酸素は、今日までに知られている線量効果関係修飾因子のうちでは、修飾係数が最も大きいものの一つであるが、比較的低線量域ではあまり増感効果が期待できないことを意味している。

線量効果関係は、片対数グラフ上、比較的低線量域では直線に近く、これは single hit による細胞死を反映している^{8)~9)}。線量の増加とともに下にわん曲し、さらにまた直線に近づくが、これは亜致死損傷の蓄積による細胞死を反映している^{8)~11)}、と理解されている。この立場に立つと、酸素は single hit による細胞死を修飾しないか、してもその程度が少ないことを意味している。これは LET の高い放射線での、酸素の増感係数が小さく、1に近いことと矛盾しない^{12)~15)}。

腫瘍の中に低酸素分圧の細胞があること^{16)~19)}、酸素の増感係数（それは D_0 値や比較的大線量での等効果線量の比から算出したものだが）が大きいということから、臨床での治療成績をあげるために、高圧酸素ガスあるいは高酸素濃度ガスの吸入等が試みられてきた。しかしそれらは必ずしもよい結果がえられなかった。ことに一回線量を2.0Gy 前後にした場合はそうであった^{20)~22)}。基礎実験からの期待と臨床での結果との間のギャップを説明する理由の一つは、修飾係数算出方法といえるだろう。さらに多くの細胞系での低線量域での酸素の増感作用に関する研究がまたれる。

BUdR の増感係数は、X 線照射、中性子線照射に関して、それぞれ3.33, 2.14であった。中性子線照射における BUdR の増感係数に関する報告は、ごく限られている²³⁾が、少なくともここでえられた増感係数は十分に大きく、臨床で試みるに十分に値するだけの大きさである。ただ実際に臨床に応用する前には、治療可能比がどうなるのかは当然検討しておく必要のある課題である。

中性子線の RBE および、中性子線照射あるい

Table 2. Isoeffect doses of D-T neutrons and X-rays for relatively high survival (55%) of L5 cells, the dose reduction factors of oxygen and BUdR and the relative biological effectiveness (RBE) of D-T neutrons to X-rays

Treatment	55% survival		RBE
	Neutrons	X-rays	
hypoxic			
oxygenated	0.75Gy	2.0Gy	2.67
BUdR (-)	0.75	2.0	2.67
BUdR (+)	0.35	0.6	1.71
OER*1	1.0	1.0	
BUdR -ER*2	2.14	3.33	

*1: oxygen enhancement ratio.

*2: BUdR enhancement ratio.

Table 3. Isoeffect doses of D-T neutrons and X-rays for 10% survival of L5 cells, the dose reduction factors of oxygen and BUdR and the relative biological effectiveness (RBE) of D-T neutrons to X-rays

Treatment	Neutrons	X-rays	RBE
hypoxic			
oxygenated	2.95 ⁶⁷	8.0 ⁶⁷	2.71
BUdR (-)	2.35	4.5	1.91
BUdR (+)	1.05	1.8	1.71
OER* ¹	1.26	1.78	
BUdR -ER* ²	2.23	2.50	

*1: oxygen enhancement ratio.

*2: BUdR enhancement ratio.

はX線照射した時の、酸素およびBUdRの修飾係数を従来の報告と比較するために、線量効果関係の係数D₀値の比、さらにまた10%生存率に関して等効果線量の比を計算して、Table 1およびTable 3にあわせて示した。

X線照射における酸素の増感係数は、生存率を10%にするのに必要な線量で計算して1.78、線量効果関係のD₀値で計算すると3.24であった。これらの値は、従来in vitro細胞系^{24)~28)}、in vivo細胞系^{29)~34)}を用いて報告されている値と、あまり大きなちがいはなかった。

中性子線照射における酸素の増感係数は、10%生存率、D₀値で計算して、それぞれ1.26と1.79であった。これらの値は従来報告されている値^{1)29)35)~37)}とよく一致した。またこれらの値はそれぞれ、X線照射における値²⁹⁾³⁷⁾³⁸⁾よりも小さく、その点においても従来の報告とは矛盾するものではなかった。

中性子線のX線に対するRBE値は、低酸素圧状態、あるいは酸素飽和状態で生存率を10%にするのに必要な線量の比較をすると、それぞれ2.71と1.91であった。中性子線のX線に対するRBE値は、実験系によっては1前後のこともあるが^{39)~41)}、多くの場合は2前後である^{1)3)29)36)39)42)~46)}。ここでえられた値は、これまでの多くの実験結果によく一致している。

中性子線のRBE値は、低酸素圧状態で照射した時よりも、酸素飽和状態の方が小さかった。

これは、HeLa細胞その他の哺乳動物細胞ですでに確認されていること¹⁾²⁹⁾³⁶⁾によく一致している。

また酸素飽和状態でX線照射した時のBUdRの増感係数は、10%生存率線量、D₀値で計算すると、それぞれ2.50、1.91であった。これらの値もまたこれまでの報告^{23)47)~49)}によく一致していた。ここでえられた中性子線照射におけるBUdRの増感係数は、D₀値で計算すると熱中性子線照射における増感係数²³⁾よりも大きかった。しかし中性子線照射における増感係数に関する報告はほとんどなく、このちがいの原因を説明する資料がない。

BUdRの増感係数は中性子線照射に対しては、X線照射に対するよりも小さかった。これは細胞致死の機構に関しては、BUdRによって修飾を受けやすい部分が、中性子線照射の場合は少ないことを意味しているが、本当に少ないのか、そしてその原因に関して詳細に論ずるには資料がない。

ま と め

1. in vitro培養細胞のコロニー形成能を指標として、14MeV中性子線およびX線照射における酸素およびBUdRの増感作用について検討した。

2. 酸素の中性子線照射における増感係数はD₀値および10%生存率線量で計算するとそれぞれ1.8および1.3であり、X線照射の場合はそれぞれ3.2および1.8であった。しかし比較的低線量になるにつれて1に近づいた。

3. BUdR処理された細胞を酸素存在下で照射すると、中性子線照射における増感係数はD₀値および10%生存率線量で計算してそれぞれ1.8および2.2であり、X線照射の場合はそれぞれ1.9および2.5であった。比較的低線量域(55%生存率)では中性子線照射の場合、X線照射の場合とでそれぞれ2.1および3.3であった。

文 献

- 1) Masuda, K.: Effects of 14 MeV neutrons on the reproductive capacity of HeLa S3 cells. J. Radiat. Res., 9: 116-128, 1968
- 2) Masuda, K.: Survival of synchronized L cells irradiated with 14 MeV neutrons. Int. J. Radiat. Biol., 20: 85-86, 1971
- 3) Masuda, K.: Effects of 14 MeV neutrons and

- X-rays, singly or combined on the reproductive capacity of L cells. *J. Radiat. Res.*, 11: 107—112, 1970
- 4) Wakisaka, S.: *in vitro* correlation of drug concentrations and radiosensitization in combination therapy with 5-bromo-2'-deoxyuridine, methotrexate, and radiation. *Cancer Res.*, 39: 244—249, 1979
- 5) Yamamoto, O., Sawada, S. and Yoshinaga, H.: Fast neutron absorption dose estimated from the elemental constitution of bone marrow of small animals. *Nipp. Acta Radiol.*, 23: 141—145, 1963
- 6) Masuda, K. and Wakisaka, S.: Concentration of inoculated cells and shapes of survival curves. *Int. J. Radiat. Biol.*, 23: 99—103, 1973
- 7) Gunter, S.E. and Kohn, H.I.: The effect of X-rays on the survival of bacteria and yeast. I. A comparative study of the dose-survival curves of *Azotobacter agile*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Rhodopseudomonas spheroides*, and *Saccharomyces cerevisiae* irradiated in the resting state. *J. Bact.*, 71: 571—581, 1956
- 8) Todd, P.: Fractionated heavy ion irradiation of cultured human cells. *Radiat. Res.*, 34: 378—389, 1968
- 9) Wideröe, R.: A discussion of the oxygen effect based upon the two-component theory of radiation. *Radiol. Clin.*, 39: 20—31, 1970
- 10) Alper, T., Fowler, J.F. and Morgan, R.L.: The characterization of the type c survival curve. *Brit. J. Radiol.*, 35: 722—723, 1962
- 11) Phillips, T.L.: The importance of Dq. *Int. J. Radiat. Oncology Biol. Phys.*, 1: 167—168, 1976
- 12) Berry, R.J. and Andrews, J.R.: The effect of radiation ionization density (LET) upon the reproductive capacity of mammalian tumour cells irradiated and assayed *in vivo*. *Brit. J. Radiol.*, 36: 49—55, 1963.
- 13) Todd, P.: Heavy-ion irradiation of cultured human cells. *Radiat. Res. (Suppl.)*, 7: 196—207, 1967
- 14) Berry, R.J.: Survival of murine leukemia cells *in vivo* after irradiation *in vitro* under aerobic and hypoxic conditions with monoenergetic accelerated charged particles. *Radiat. Res.*, 44: 237—247, 1970
- 15) Guichard, M., Lachet, B. and Malaise, E.P.: Measurement of RBE, OER, and recovery of potentially lethal damage of a 645 MeV Helium ion beam using EMT 6 cells. *Radiat. Res.*, 71: 413—429, 1977
- 16) Gray, L.H., Conger, A.D., Ebert, M., Hornsey, S. and Scott, O.C.A.: The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy. *Brit. J. Radiol.*, 26: 638—648, 1953
- 17) Powere, W.E. and Tolmach, L.J.: A multicomponent X-ray survival curve for mouse lymphosarcoma cells irradiated *in vivo*. *Nature*, 197: 710—711, 1963
- 18) McNally, N.J.: A low oxygen-enhancement ratio for tumour-cell survival as compared with that for tumour-growth delay. *Int. J. Radiat. Biol.*, 22: 407—410, 1972
- 19) Denekamp, J., Fowler, J.F. and Dische, S.: The proportion of hypoxic cells in a human tumor. *Int. J. Radiat. Oncology Biol. Phys.*, 2: 1227—1228, 1977
- 20) Plenk, H.P.: Hyperbaric radiation therapy. Preliminary results of a randomized study of cancer of the urinary bladder and review of the oxygen experience. *Amer. J. Roent.*, 114: 152—157, 1972
- 21) Glassburn, J.R., Brady, L.W. and Plenk, H.P.: Hyperbaric oxygen in radiation therapy. *Cancer*, 39(Suppl.): 751—765, 1977
- 22) Sause, W.T., Sweeney, R.A., Plenk, H.P. and Thomson, J.W.: Radiotherapy of bronchogenic carcinoma. Analysis of a treatment schedule designed for use with hyperbaric oxygen. *Radiology*, 140: 209—212, 1981
- 23) Delihass, N., Rich, M.A. and Eidinoff, M.L.: Radiosensitization of a mammalian cell line with 5-bromodeoxyuridine. *Radiat. Res.*, 17: 479—491, 1962
- 24) Bedford, J.S. and Hall, E.J.: Threshold hypoxia: Its effect on the survival of mammalian cells irradiated at high and low dose-rate. *Brit. J. Radiol.*, 39: 896—900, 1966
- 25) Belli, J.A. and Roach, A.: "Anoxic" radiation response in cultured mammalian cells. *Brit. J. Radiol.*, 41: 390—391, 1968
- 26) Kruuv, J. and Sinclair, W.K.: X-ray sensitivity of synchronized Chinese hamster cells irradiated during hypoxia. *Radiat. Res.*, 36: 45—54, 1968
- 27) Berry, R.J., Hall, E.J. and Cavanagh, J.: Radiosensitivity and oxygen effect for mammalian cells cultured *in vitro* in stationary phase. *Brit. J. Radiol.*, 43: 81—90, 1970
- 28) McNally, N.J. and De Ronde, J.: The effect of repeated small doses of radiation on recovery

- from sublethal damage by Chinese hamster cells irradiated in the plateau phase of growth. *Int. J. Radiat. Biol.*, 29: 221—234, 1976
- 29) Hornsey, S. and Silini, G.: Studies on cell-survival of irradiated Ehrlich ascites tumour. II. Dose effect curves for X-ray and neutron irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, 4: 135—141, 1961
 - 30) Andrews, J.R. and Berry, R.J.: The relative biological effectiveness (RBE) of neutron irradiation of a quantitative in vivo mouse tumour cell system (Abstract). *Radiat. Res.*, 14: 447, 1961
 - 31) Till, J.E.: Quantitative aspects of radiation lethality at the cellular level. *Amer. J. Roent.*, 90: 917—927, 1963
 - 32) Belli, J.A., Bonte, F.J. and Rose, M.S.: Radiation recovery response of mammalian tumour cells in vivo. *Nature*, 211: 662—663, 1966
 - 33) Kember, N.F.: Cell survival and radiation damage in growth cartilago. *Brit. J. Radiol.*, 40: 496—505, 1967
 - 34) Berry, R.J.: Hypoxic protection and recovery in tumour cells irradiated at low dose-rates and assessed in vivo. *Brit. J. Radiol.*, 41: 921—926, 1968
 - 35) Neary, G.J. and Savage, J.R.K.: Oxygen effect with 14 MeV neutrons. *Nature*, 204: 197, 1964
 - 36) Wright, E.A., Bewley, D.K. and Parnell, C.J.: The effects of cyclotron neutrons on the intact mouse thymus under normal and hypoxic conditions. *Brit. J. Radiol.*, 39: 551—553, 1966
 - 37) Čerček, L., Ebert, M. and Greene, D.: RBE, OER and dose rate effects with 14 MeV neutrons relative to 300 kVp X-rays in barley roots. *Int. J. Radait. Biol.*, 14: 453—462, 1968
 - 38) Berry, R.J., Bewley, D.K. and Parnell, C.J.: Reproductive capacity of mammalian tumour cells irradiated in vivo with cyclotron-produced fast neutrons. *Brit. J. Radiol.*, 38: 613—617, 1965
 - 39) Nowell, P.C. and Cole, L.J.: Late effects of fast neutrons versus X-rays in mice nephrosclerosis, tumor, longevity. *Radiat. Res.*, 11: 545—556, 1959
 - 40) Withers, H.R., Brennan, J.T. and Elkind, M.M.: The response of stem cells of intestinal mucosa to irradiation with 14 MeV neutrons. *Brit. J. Radiol.*, 43: 796—801, 1970
 - 41) Aarnoudse, M.W. and Lamberts, H.B.: Depolymerization of mucopoly saccharides by X-rays and fast neutrons. *Int. J. Radait. Biol.*, 20: 437—445, 1971
 - 42) Schneider, D.O. and Whitmore, G.F.: Comparative effects of neutrons and X-ray on mammalian cells. *Radiat. Res.*, 18: 286—306, 1963
 - 43) Broerse, J.J. and Barendsen, G.W.: Effects of monoenergetic neutron radiation on human cells in tissue culture. (In) *Biological effects of neutron and proton irradiation*. Vol. 1 pp. 309—324, Int. Atomic Energy Agency, 1964
 - 44) Hornsey, S., Vatistas, S., Bewley, D.K. and Parnell, C.J.: The effect of fractionation on four day survival of mice after whole-body neutron irradiation. *Brit. J. Radiol.*, 38: 878—880, 1965
 - 45) Berry, R.J.: "Small clones" in irradiated tumour cells in vivo. Kinetics of re-growth of murine leukaemia cells surviving irradiation with X-rays, fast neutrons and accelerated charged particles. *Brit. J. Radiol.*, 40: 285—291, 1967
 - 46) Bewley, D.K., Field, S.B., Morgan, R.L., Page, B.C. and Parnell, C.J.: The response of pig skin to fractionated treatments with fast neutrons and X-rays. *Brit. J. Radiol.*, 40: 765—770, 1967
 - 47) Mohler, W.C. and Elkind, M.M.: Radiation response of mammalian cells grown in culture. III. Modification of X-ray survival of Chinese hamster cells by 5-bromodeoxyuridine. *Exp. Cell Res.*, 30: 481—491, 1963
 - 48) Dewey, C., Stone, L.E., Miller, H.H. and Gibrak, R.E.: Radiosensitization with 5-bromodeoxyuridine of Chinese hamster cells X-irradiated during different phase of the cell cycle. *Radiat. Res.*, 47: 672—688, 1971
 - 49) Lohman, P.H.M., Bootsma, D. and Hey, A.H.: The influence of 5-bromodeoxyuridine on the induction of breaks in the deoxyribonucleic acid of cultivated human cells by X-irradiation and ultraviolet light. *Radiat. Res.*, 52: 627—641, 1972