The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	サイクロトロン中性子線による各種人癌培養細胞の不活性化効果
Author(s)	稲田, 哲雄; 春日, 孟; 渡部, 郁雄
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1977, 37(10), p. 979-982
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19195
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

サイクロトロン中性子線による各種人癌培養細胞の不活性化効果

放医研・物理研究部
稲田 哲雄
放医研・生理病理研究部
春日 盃 渡部郁雄

(昭和52年4月8日受付)
(昭和52年6月13日最終原稿受付)

Inactivation of Several Human Tumour Cells after Cyclotron Neutron Irradiation

Tetsuo Inada
Physics Division, National Institute of Radiological Sciences
Takeshi Kasuga and Ikuo Watanabe
Physiology and Pathology Division, National Institute of Radiological Sciences

Research Code No.: *407*
Key Words: *Fast neutron, RBE, Cell survival*

The biological effects of fast neutrons from thick beryllium target (d, n) reactions at 30 MeV on cell inactivation were studied in three human cell lines; Burkitt lymphoma P3HR-1, HeLa-S3 and human melanoma HMV cells which were characterized by the different sensitivities to X-rays. The D_q values of these three cell lines after neutron irradiation were determined to be 58, 63 and 67 rad, while D_0 values were 13, 93 and 106 rad for P3HR-1, HeLa-S3 and HMV cells, respectively. These results indicate that the neutrons used in this experiment gave the same magnitude of effects on P3HR-1 cells, but less effects for the other two cell lines in comparison with that of 2MeV neutrons from Van de Graaff. It was also shown that recovery from sublethal damage in P3HR-1 cells was not completely suppressed with the cyclotron neutrons.

I. 緒 言

細胞に対する電離放射線の致死効果は，LETとともに著しく増大することがよく知られている[1]．しかしながら，各種の人癌由来の培養細胞の放射線感受性は，平均2MeV中性子線（$\bar{L}_T$=45keV/μ）[2]に対しほぼ等しいものとなり，正常細胞と腫瘍細胞との損傷において差がなくなるものと考えられ，よつて癌治療に用うべき中性子線としては，これより低いLETのもので所要の治療効果をあげるべきものと推論された[3]．このほど放射線医学総合研究所に設置された医用サイクロトロンにて治療に用いられている平均約13MeVの速中性子線は^{60}Co-γ線とほぼ同等の深部線量分布を示し，そのLETは，$\bar{L}_T \doteqdot 20$keV/μと考え

られる[4]．このようなより低い LET の中性子線に対し，前述の人癌細胞の生残率がどのように変化するかについて，またX線との対比において，その RBE が如何であるかを実験的に求めた．

II. 材料および研究方法

II—1，細胞および培養条件

材料として X線感受性の異なる三種の人癌由来の培養細胞を使用した．これらは，Burkitt 淋巴腫細胞 P3HR—1（以下 BCL と略記），HeLa S 3—1（以下 HeLa と略記）および Human melanoma (HMV)[5] である．これらの細胞の培養培地として，F—10 medium に10% calf serum, 10% fetal calf serum, 0.05% heart infusion broth (Difco)，100Unit/ml ペニシリンおよび100μg/ml ストレプトマイシンの混合培地を用い，CO_2 incubator 中にて37℃に保ち培養をおこなつた．実験には指数増殖期の細胞を用いた．

II—2，照射条件

X線照射は信愛型装置により，200kV, 20 mA にて，0.3mmCu および1mmAl フィルターを付した線源（HVL＝1.1mmCu）にておこなつた．細胞容器は回転円盤上の SSD＝50cm に設定され，線量率は，111 rad/min であつた．

中性子線照射はサイクロトロンにより加速された30MeV，約10μA の重陽子ビームを厚いベリリウム・ターゲットに入射してえられる前方放射線場にて，SSD＝80～260cm の間の6点に細胞容器（スピッツ遠心管）を設定し，水平方向に，それぞれ500，400，300，200，100および50radとなるよう照射した．この所要ビームは3440μクーロン，所要時間は約5分40秒であつた．したがつて，線量率はおよそ8.7～87rad/min の間にあるが，ここで三種の細胞の不活性化につき，この範囲での線量率依存を認めなかつた．

II—3，生残率測定

適当数の細胞を約2ml の培養液にとり，X線照射容器としては，直径6cm のプラスチック組織培養皿（Falcan #3011）を，また中性子照射容器にはプラスチック・スピッツ遠心管を使用した．ここで適当な細胞数として，培養後に約100ケのコロニーの計数がえられるように定めた．

中性子照射実験では，細胞は照射後直ちに Falcon 組織培養皿の新たな培地に播布された．BLC は，あらかじめ培養皿上に形成された0.3%軟寒天層上に播き，これを0.3%軟寒天混合培地にて蔽つた．

照射後2週間，37℃の CO_2 incubator にて培養をおこない，約50ケ以上の細胞からなるコロニーを計算した．

非照射細胞の plating 効率は本実験を通じて，いずれの cell line も60～80%であつた．

生存率曲線は，各測定点の標準偏差を考慮して，$1-[1-\exp(D/Do)]^n$ 型に電算機処理によりフィットさせて求めた．

III. 結　果

Fig. 1に本実験の結果を示す．X線に対する生残率の測定は速中性子線実験とほぼ並行しておこなわれた．以前に報告したX線感受性の結果と較べると，n または Dq 値で表現される亜致死損傷回復能がやや増しているが，Do については実験誤差内で一致しており，本質的な差異はないものと考えた．これらの生残率曲線のパラメーターを

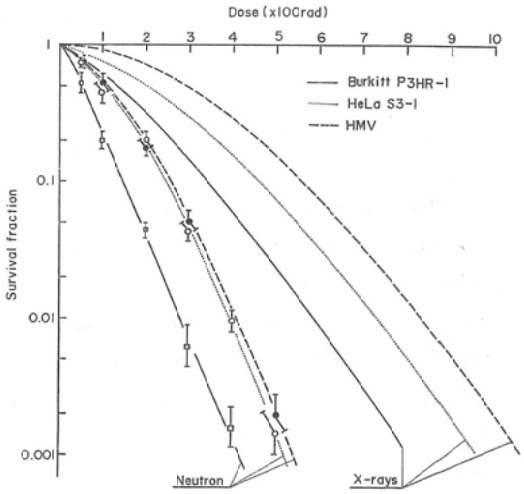

Fig. 1 Survival curves of Burkitt lymphoma (P3-HR-1), HeLa-S3 and human melanoma (HMV) cells after X-ray and cyclotron neutron irradiation.

Table 1. Radiation quality and radiosensitivity of various cell lines.

Cell line	Parameter	X-ray (200 kV)	cyclotron neutron	cyclotron neutron RBE (En=13 MeV)	Van de Graaff netroun RBE (En=2 MeV)
P3HR-1	Do (rad)	123	58	2.12	2.3
	Dq (rad)	48	13	3.69	—
	n	1.5	1.2		
HeLa-S3	Do (rad)	123	63	1.95	2.5
	Dq (rad)	190	93	2.04	7.3
	n	5.0	4.2		
HMV	Do (rad)	125	67	1.87	2.5
	Dq (rad)	272	106	2.57	9.8
	n	9.1	4.9		

Table 1にまとめて示した．

これらの結果から，BLC の速中性子に対する生存曲線は n>1 であり，亜致死損傷の回復が示唆される．また，三種の細胞の速中性子に対する生存率曲線を比較すると，n および Dq に関して BLC と他の二種の細胞の間で差が認められるが，Do にはほとんど差がない．

Table 1にサイクロトロン中性子の 200KV—X線に対する RBE を示した．Do についての RBE は三種の細胞間で有意差がなく，約 2 である．それは，いずれの細胞もX線および中性子の Do がほぼ同じであつたことに起因している．

細胞の放射線感受性に対する LET 効果は Do よりもむしろ Dq の RBE によつて顕著に現われ，かつ，細胞種間の差も大きい．RBE (Dq) のもつとも大きいのは BLC で，ついで HMV, HeLa の順になつている．

IV. 考　案

本研究に使用された三種の細胞は，いづれも人癌由来の培養細胞で，これらの株の X線感受性は，これまでに反復測定が続けられており[6]，ほぼ安定した放射線感受性を保持することが確められている．さらに，これらの細胞の放射線感受性は Do 値で比較すれば，類似した値を示すに対し，Dq または n 値では顕著な差異が認められている．よつて，これらの細胞の比較使用が，LET 酸素濃度等の放射線感受性への修飾効果を判定するうえで有利なものと考えられている[3)7)]．

Table 1の最右欄に文献3)に報告されている平均2MeV 中性子線 ($\bar{L}_T$=45KeV/μ) に対する RBE 値を比較のために掲げた．この場合にも，Dq または n 値の減少が著しく，生存率曲線が類似のものとなつたが，いづれの細胞においても，Do はほぼ等しく，RBE (Do) が2.3～2.5であることが示されている[3]．本実験に用いたサイクロトロン中性子線 ($\bar{L}_T$≃20KeV/μ) に対してはとくに HeLa, HMV において亜致死損傷の回復が顕著(n=4.2および4.9)であり，BLC 生存曲線の小さい回復 (n=1.2) とに差が認められて，これらのX線抵抗性細胞では，2MeV 中性子に対して観測されたごとき BLC と同等の損傷を与えるには至らない．しかし，Do による RBE はいずれも1.9～2.1にあつてほぼ等しく，細胞種によらないことが認められる．このことが，他の細胞種についても検証されるならば，Do の変化だけで LET 効果を定量的に表現しうることになろう．

サイクロトロン中性子線治療において，細胞種によつて RBE (Do) は等しいが，亜致死損傷からの回復が異なることがバンデ・グラーフによる2MeV 中性子との著しい差である．このために，例えば2MeV 中性子線治療において顕著な減少を示した[9]黒色腫のサイクロトロン中性子に対する応答について HMV 細胞の不活化から推定すると，その生存率曲線に残存する肩 (n=4.9) によつて，0.01%生存残に要する線量は，2MeV 中性子による場合 (n=1.8) の約 2 倍となることが示唆される．しかしながら，細胞による生存率がバンデ・グラフ中性子ではほぼ同等であつたことに対

し，サイクロトロン中性子照射後の回復が細胞種により異なることから，2MeV 中性子治療においてほとんど期待できなかつた分割照射効果が期待しうるものである．このような考察から，このサイクロトロン中性子は「中 LET 放射線」と看做すことができよう．

本研究でえられた LET ($\bar{L}_D$) —RBE (Do) 関係は，Barerdsen [1]および Todd[8]が T1 cell の1%生存率について求めた LET—RBE (D0.01) 関係に一致する．しかし，彼等の Do について求めた LET—RBE (Do) 関係は，我々の結果を中性子の LET として飛程平均 LET ($\bar{L}_T$)—RBE (Do) 関係にて表現した場合がより近い一致を示す．すなわち，LET—RBE (Do) 関係を考える場合，中性子線の LET として L_D より $\bar{L}_T$ がより適した量のように思われる．

V. 結　語

X線感受性の異なる三種のヒトの癌培養細胞につき，これらのサイクロトロン中性子線照射後の生存率を求めた．

Burkitt 淋巴腫，HeLa S3 およびヒト黒色腫細胞についての Do はそれぞれ，58，63．67 rad であつて著しい差はないが，Dq が Burkitt 細胞の13rad に対し，他の二細胞は93，106rad と差を生じた．バンデ・グラフによる平均2MeV 中性子線によれば，これらの細胞の生存率はほぼ同等のものとなり，亜致死損傷の回復が小さかつたことに対比して，サイクロトロン中性子ではもつとも放射線感受性の高い Burkitt 細胞においても，その亜致死損傷からの回復能が失われない．

本研究の遂行にあたり，細胞培養を担当された野尻イチ氏に感謝致します．本研究の一部は文部省がん特別研究（I）助成金によつた．

文　献

1) Barendsen, G.W.: Responses of cultured cells, tumors and normal tissues to radiations of different linear energy transfer, Curr. Top. Radiat. Res., 4: 293—356, 1968
2) 稲田哲雄：MeV 電子線および 2 MeV 中性子線の LET の算定に関する研究．日本医放会誌，31，933—948，1971.
3) Inada, T., Kasuga, T., Nojiri, I., Furuse, T. and Hiraoka, T.: Linear energy transfer-dependent radiosensitivity of Burkitt lymphoma cells, with special references to human melanoma HMV, HeLa-S3, and L5178Y cells. GANN, 67: 399—402, 1976
4) Oliver, Jr., G.D., Grant III, W.H. and Smathers, J.B.: Radiation Qualility of Fields Produced by 16-, 30-, and 50-MeV Deuterons on Beryllium. Radiat. Res., 61: 366—373, 1975
5) 春日　盂：黒色腫・HMV 株，人癌細胞の培養，大星章一・菅野晴夫編集，pp. 203—215，昭和50年，朝倉書店，東京.
6) Inada, T., Kasuga, T., Nojiri, I., Furuse, T. and Hiraoka, T.: Recovery in Burkitt lymphoma cells after X-ray irradiation. GANN, 451—453, 1976
7) Inada, T., Kasuga, T., Nojiri, T., Hiraoka, T. and Furuse, T.: Comparative study on radiosensitivities of cultured cell lines derived from several human tumor under hypoxic condition. GANN, 68, 357—362, 1977.
8) Todd, P.: Heavy ion irradiation of cultured human cells. Radiat. Res. Suppl., 7: 196—207, 1967.
9) Tsunemoto, H., Umegaki, Y., Urano, M., Kurisu, A., Kutsutani, Y., Inada, T. and Hiraoka, T.: Experimental Studies and Clinical Trial with Fast Neutrons, Fraction Size in Radiobiology and Radiotherapy, Igaku Shoin, Tokyo, 1973