

PRELIMINARY REANALYSIS OF RADIATION-INDUCED CHROMOSOME
ABERRATIONS IN RELATION TO PAST AND NEWLY REVISED
DOSE ESTIMATES FOR HIROSHIMA AND NAGASAKI A-BOMB SURVIVORS

広島・長崎原爆被爆者に対する新旧線量推定法による放射線量と
放射線誘発性染色体異常との関連性についての予備的再解析結果

AKIO A. AWA, Sc.D. 阿波章夫
TOSHIO SOFUNI, Sc.D. 祖父尼俊雄
TAKEO HONDA, Sc.D. 本田武夫
HOWARD B. HAMILTON, M.D.
SHOICHIRO FUJITA, M.S. 藤田正一郎



RADIATION EFFECTS RESEARCH FOUNDATION
財団法人 放射線影響研究所
A Cooperative Japan - United States Research Organization
日米共同研究機関

ACKNOWLEDGMENT

謝 辞

We are grateful to the RERF Cytogenetic Laboratory staff in Hiroshima and Nagasaki without whose technical assistance the present study would not have been possible.

広島及び長崎の放影研細胞遺伝学研究室研究員及び技術員の技術的援助によって今回の研究が進められたことを感謝する。

Presented at the International Symposium on Biological Dosimetry:
Cytometric Approaches to Mammalian Systems, Gesellschaft für Strahlen und
Umweltforschung, Munich-Neuherberg, 14-16 October 1982

国際シンポジウム“生物学的線量推定法：細胞測定法による哺乳動物系へのアプローチ”，
放射線環境研究所主催，1982年10月14—16日，ノイヘルベルク（ミュンヘン）西ドイツで発表

In the continued interest of accurately defining the late effects of the atomic bombs, the qualitative and quantitative characteristics of the A-bomb radiation exposure doses are periodically refined. If warranted by future dose assessments, the data reported here will be reanalyzed and subsequently reported.

原爆の後影響を引き続いて正確に究明する目的をもって，原爆放射線被曝線量の質的・量的特質について定期的に改良を加えている。今後線量評価によって，その必要性が起これば，本報の資料を再解析の上，改めて報告する。

RERF TECHNICAL REPORT SERIES

放影研業績報告書集

The RERF Technical Reports provide the official bilingual statements required to meet the needs of Japanese and American staff members, consultants, and advisory groups. The Technical Report Series is not intended to supplant regular journal publication.

放影研業績報告書は，日米専門職員，顧問，諮問機関の要求に応えるための日英両語による公式報告記録である。業績報告書は通例の誌上発表論文に代わるものではない。

The Radiation Effects Research Foundation (formerly ABCC) was established in April 1975 as a private nonprofit Japanese Foundation, supported equally by the Government of Japan through the Ministry of Health and Welfare, and the Government of the United States through the National Academy of Sciences under contract with the Department of Energy.

放射線影響研究所（元ABCC）は，昭和50年4月1日に公益法人として発足したもので，その経費は日米両政府の平等分担により，日本は厚生省の補助金，米国はエネルギー省との契約に基づく米国学士院の補助金とをもって運営されている。

PRELIMINARY REANALYSIS OF RADIATION-INDUCED CHROMOSOME
ABERRATIONS IN RELATION TO PAST AND NEWLY REVISED
DOSE ESTIMATES FOR HIROSHIMA AND NAGASAKI A-BOMB SURVIVORS

広島・長崎原爆被爆者に対する新旧線量推定法による放射線量と
放射線誘発性染色体異常との関連性についての予備的再解析結果

AKIO A. AWA, Sc.D. (阿波章夫)¹; TOSHIO SOFUNI, Sc.D. (祖父尼俊雄)¹;
TAKEO HONDA, Sc.D. (本田武夫)¹, HOWARD B. HAMILTON, M.D.¹
SHOICHIRO FUJITA, M.S. (藤田正一郎)²

Departments of Clinical Laboratories¹ and Epidemiology & Statistics²

臨床検査部¹ 及び疫学統計部²

SUMMARY

A comparison of chromosome data from 408 atomic bomb survivors (229 in Hiroshima and 179 in Nagasaki) was performed by determining the frequency of cells with radiation-induced chromosome aberrations plotted against the current 1965 dosimetry revised system (T65DR), and the recently proposed dosimetry systems from Oak Ridge National Laboratory (ORNL) and Lawrence Livermore National Laboratory (LLNL). Preliminary analysis shows that the intercity difference in aberration frequencies is still apparent at every T65DR dose level, while the aberration frequencies based on both the ORNL and LLNL systems do not differ strikingly between the two cities, particularly in the dose range below 200 rad.

INTRODUCTION

In the previous cytogenetic study of A-bomb survivors in Hiroshima and Nagasaki,¹ a close relationship was found between radiation dose and frequency of cells with residual chromosome aberrations. A difference in aberration frequency was noted between Hiroshima and Nagasaki with the frequency of aberrant cells consistently higher in every dose range in Hiroshima. One possible explanation for this difference was thought to be the contribution of the neutron

要約

原爆被爆者408例(広島229例及び長崎179例)の染色体解析の結果から、現行の1965年改訂暫定推定線量(T65DR)並びに、Oak Ridge 研究所(ORNL)とLawrence Livermore 研究所(LLNL)が新たに提唱している原爆推定線量に基づいて、放射線誘発性染色体異常細胞の頻度をプロットし、それぞれの線量推定方式についての比較を行った。予備的解析の結果、T65DR方式では広島と長崎の間にみられる異常頻度の差は各線量域において依然として認められるが、ORNL方式及びLLNL方式では両市間の異常頻度の差は顕著ではなく、特に200rad以下の線量域において差がないようである。

緒言

広島・長崎原爆被爆者に関するこれまでの細胞遺伝学的研究¹では、放射線量と残存染色体異常を有する細胞の頻度の間には密接な関係があることが明らかになった。異常細胞の頻度には広島と長崎で差異がみられ、広島の方がすべての線量域で一貫して高かった。この差異を説明するものとして、広島

component released from the Hiroshima bomb. Estimated radiation doses for individual survivors used in the cytogenetic study were derived from the tentative 1965 dose revised (T65DR) system, currently in use at RERF. The T65D was calculated by Auxier et al² in 1966 and by Milton and Shohoji³ in 1968, and was modified later (T65DR).⁴

Recently, reevaluation of A-bomb radiation air dose was made by Loewe and Mendelsohn⁵ of LLNL, and independently by Kerr⁶ of ORNL. The major difference between the current T65DR and the two proposed dosimetry systems is that in Hiroshima the estimates for the relative magnitude of the neutron component are much lower for the ORNL and LLNL systems than for the T65DR system.

The purpose of this study is to compare the somatic chromosome aberration frequencies among Hiroshima and Nagasaki A-bomb survivors, based on the T65DR, ORNL, and LLNL dose estimates.

MATERIALS AND METHODS

Subjects of the present study were selected from participants in the Adult Health Study sample, who visit RERF for biennial clinical examination as part of regular procedure based on the A-bomb Survivors Medical Treatment Law. Cytogenetic samples consisted of exposed and control groups, in the former were survivors exposed proximally (within 2,000m from the hypocenter) at the time of the bomb (ATB) with an estimated T65DR dose of 1 rad or more, while the latter were distally exposed survivors at a distance of more than 2,500 m from the hypocenter, with an estimated dose of less than 1 rad.

Excluded were those who had received radiotherapy or radioisotope exposure at any time prior to the cytogenetic examination, those whose dose was estimated to have exceeded 1,000rad by the T65DR system, and those whose scorable metaphases were found to be less than 30.

For comparison of the T65DR, ORNL, and LLNL dosimetry systems, the samples were further limited to those survivors exposed either in the open or in Japanese type houses. Marcum's

爆弾から放出された中性子成分の寄与が考えられた。この細胞遺伝学的研究で使用された個々の被爆者の推定放射線量は、現在放影研で使用されている1965年改訂暫定推定線量(T65DR)によるものである。1965年暫定推定線量(T65D)は1966年にAuxierら²、1968年にMiltonと正法地³によって計算されたもので、その後、更に修正が加えられた(T65DR)。⁴

近年、LLNLのLoeweとMendelsohn⁵、またORNLのKerr⁶がそれぞれ独自に、原爆放射線の空気線量の再評価をした。現行のT65DRと二つの提案された線量推定法の主な相違は、広島の中性子成分の相対量において、ORNL推定線量及びLLNL推定線量の方がT65DRよりもはるかに低いことである。

この研究の目的はT65DR方式、ORNL方式、LLNL方式の線量測定法に基づいて広島・長崎の原爆被爆者における体細胞染色体異常を比較することにある。

材料及び方法

今回の研究の対象者は、原爆被爆者医療法に基づく定期検診の一環として放影研で2年に1回行われる臨床検診を受けている成人健康調査集団から選定した被爆群と対照群からなる。前者はT65DRの推定放射線量が1 rad以上の近距離被爆者(爆心地より2,000 m以内で被爆)、後者は爆心地より2,500 m以上の距離で被爆した推定放射線量1 rad以下の遠距離被爆者である。

今回の細胞遺伝学的検査以前に放射線治療歴又は放射性同位元素被曝歴のある者、T65DRによる推定放射線量が1,000radを超えると推定された者、算定可能な分裂中期細胞が30以下しか観察されない者、は対象から除外した。

T65DR方式、ORNL方式、LLNL方式の線量推定法を比較するために、更に対象者集団を日本家屋内又は野外で被爆した被爆者に限定した。日本家屋内で

TABLE 1 FREQUENCY OF CELLS WITH CHROMOSOME ABERRATIONS BY DOSIMETRY SYSTEM, HIROSHIMA AND NAGASAKI

表1 染色体異常を有する細胞の頻度，線量推定方式別，広島・長崎

Dose in rad	Dosimetry system								
	T65DR			ORNL			LLNL		
	Cases	Aberrant cells	Mean total dose	Cases	Aberrant cells	Mean total dose	Cases	Aberrant cells	Mean total dose
	Hiroshima								
0	82	1.6%	0.0	82	1.6%	0.0	82	1.6%	0.0
1- 99	17	3.3	35.9	36	5.1	60.8	23	4.1	53.0
100-199	44	7.2	153.9	69	11.5	144.4	62	9.3	152.3
200-299	35	13.6	255.1	27	19.8	231.0	39	16.4	249.9
300-399	21	14.6	347.7	10	27.0	329.7	13	25.0	346.4
400-499	19	23.3	434.7	4	11.0	449.8	5	28.8	439.6
500+	11	22.8	744.7	1	28.0	513.0	5	14.4	578.8
	Nagasaki								
0	77	1.6	0.0	77	1.6	0.0	76	1.6	0.0
1- 99	9	1.6	47.2	36	2.8	55.1	37	2.7	57.5
100-199	27	3.5	144.9	39	9.5	147.2	40	9.7	152.6
200-299	24	6.5	264.7	21	11.5	227.7	20	11.2	231.5
300-399	17	8.9	351.3	5	13.0	342.8	4	14.3	327.3
400-499	17	14.4	436.5	0	-	-	1	8.0	404.0
500+	8	18.1	586.5	1	28.0	516.0	1	28.0	502.0

shielding factors were employed as dose attenuation factors for survivors exposed in Japanese type houses (Kerr⁶).

Table 1 shows the number of cases eligible for this analyses, 408 in the two cities (229 in Hiroshima and 179 in Nagasaki), by city and 100 rad intervals for each of the T65DR, ORNL, and LLNL dose systems. It is evident that although the number of cases is fairly reasonably distributed in each dose category by the T65DR system, there is a large deficit in the number of survivors in the high dose ranges for both the ORNL and LLNL systems, particularly those over 400 rad in Hiroshima and 300 rad in Nagasaki. Further data collection on survivors with high radiation dose is obviously needed in the future for detailed statistical analysis.

Blood samples from eligible cases were collected between 1970-71, and all chromosome preparations from both cities were examined by the same observers in Hiroshima without knowledge of exposure status. Thus, any inter-

被爆した被爆者には Marcum の線量減弱係数 (Kerr⁶) を用いた。

表1には、本研究において解析に適した408例(広島229例、長崎179例)を、都市別及びT65DR方式、ORNL方式、LLNL方式別に100rad間隔で示した。T65DR方式によれば、観察例数は線量別にかなり均等に分布しているが、ORNL方式とLLNL方式ではともに高線量域、特に広島の400rad以上群と長崎の300rad以上群において、被爆者数が顕著に減少している。今後詳細な統計的解析を行うためには、高線量被爆者に関する資料を更に収集する必要がある。

該当例の血液標本は1970-71年の間に収集され、両市の染色体標本はすべて広島において、被爆状態を知らされていない同一の観察者たちによって検査された。このようにして、放射線誘発性染色体異常

city difference due to errors in identification and scoring of induced chromosome aberrations was minimized.

Cytogenetic Methods. Blood samples drawn from each donor were cultured for 52 hours, and chromosome slides prepared according to the flame-dry method using conventional Giemsa stain described elsewhere.¹ Cultures were judged successful when a minimum of 30 metaphases were analyzable cytogenetically, but no more than 100 metaphases were examined for each case. No banded preparations were available for the present study.

RESULTS AND DISCUSSION

As reported previously,¹ exchange-type chromosome aberrations demonstrable in cultured lymphocytes of A-bomb survivors consisted almost exclusively of the symmetric type, commonly referred to as stable-type aberrations (reciprocal translocations, inversions, insertions, etc.) all of which are identifiable as abnormal monocentrics. In striking contrast to the predominance of stable-type aberrations, asymmetric exchanges, or unstable-type aberrations (dicentrics and rings with accompanying acentrics) were far less frequent. The ratio of unstable to stable aberrations was 1:10-20.

A preliminary test of the culture system showed that, when the culture was terminated after 52 hours of incubation, approximately two-thirds of the observed metaphases were found to be in their first in vitro cell division, while the remaining cells were already in the second cell cycle. The culture conditions used would thus yield a decreased frequency of metaphases that carry unstable-type aberrations, since it is known that the cells with such aberrations are likely to be eliminated during mitosis due to structural disadvantages. However, the majority of aberrant cells scored in the present study were of the stable type, occurring with a frequency which appeared to remain constant regardless of the number of in vitro cell divisions. Thus, the culture conditions used here did not seem to affect the frequencies of aberrant cells.

The number of aberrations (or exchange events) per aberrant cell increased proportionally with increasing radiation dose to the survivors. The dose-dependent increase in the frequency of cells

の識別と算定誤差による両市間の差異は最小限にとどめた。

細胞遺伝学的方法. 各対象者から得られた血液標本は52時間培養され、従来のギムザ染色を用いた火焰乾燥法によって染色体スライドが作成された(この方法については既に別報に述べてある¹)。最低限30個の分裂中期細胞が細胞遺伝学的に分析可能であれば、培養成功と判断したが、分裂中期細胞100個以上の検査は行わなかった。今回の研究では分染標本は使用しなかった。

結果及び考察

既に報告されたように,¹ 被爆者の培養リンパ球において確認される交換型染色体異常は、ほとんどが例外なく相称型であり、安定型異常と呼ばれるもの(相互転座、逆位、挿入など)で、これらはすべて一動原体型異常染色体として識別される。安定型異常が優位を占めているのと極めて対照的に、非相称性交換、つまり不安定型異常(染色体断片を伴う二動原体染色体及び環状染色体)の頻度は、はるかに低かった。不安定型異常対安定型異常の割合は1:10~20であった。

本研究の培養方法に対する予備検査によると、52時間培養では、観察される分裂中期細胞のうち約半が培養第1回目の細胞分裂の段階であったが、残りの細胞は既に分裂第2周期に入っていた。したがって不安定型異常をもつ細胞は、その構造異常のため有糸分裂時に淘汰されることが多いので、今回使用した培養条件は不安定型異常を有する分裂中期細胞頻度を減少させることになる。しかしながら、今回算定された異常細胞の大部分は安定型で、培養中の細胞分裂回数に関係なく一定の頻度で発現するものであった。したがって、今回使用された培養条件は異常細胞頻度に影響を与えないと考えられる。

異常細胞1個当たりの異常の数(あるいは交換の数)は、被爆者の放射線量に比例して増加した。複雑な

with complex chromosome aberrations among survivors is also apparent in the high dose range. This phenomenon has been confirmed by an analysis of G-banded preparations by Sofuni et al.⁷ and Ohtaki et al.⁸

A number of unresolved problems remain in the use of stable-type aberrations as a biological dosimeter for irradiated persons, since the type and frequency of these aberrations cannot be determined with precision in nonbanded preparations. In addition, there are no standardized criteria for the identification of stable-type aberrations. It therefore seems difficult at present to make any interlaboratory comparison for the yield of stable-type aberrations, at least when nonbanded chromosome preparations are used. These technical difficulties can be eliminated by the use of various banding methods, but a great deal of time and experience are required to obtain banded preparations of high quality for detailed karyotype analysis.

Because of these underlying difficulties, the metaphases in conventionally stained preparations were examined only to determine whether structurally rearranged chromosomes were present. The dose-response analysis in the present study was consequently based on the frequency of aberrant cells among the total metaphases examined, and not on the frequency of aberrations per se.

Table 1 shows the frequency of aberrant cells by city and dose group for the T65DR, ORNL, and LLNL systems. For intercity comparison by dose system aberration frequency is shown in Figure 1. The dashed lines indicate that the number of samples is too scanty to represent the corresponding dose categories.

As shown in these data, for T65DR dosimetry an intercity difference in the frequency of aberrant cells is apparent with Hiroshima consistently higher than Nagasaki in every dose group. This again confirms the previous findings.¹

When the frequencies are plotted against the ORNL and LLNL dose systems, the dose-response curves for the two cities appear to approach one another (particularly below 200 rad) more closely than the T65DR system indicates (Figure 1). Although the number of cases among high dose groups for the ORNL and LLNL systems is not

染色体異常がみられる細胞の頻度における線量依存性増加もまた、高線量域において明瞭である。この現象は、祖父尼ら⁷と大滝ら⁸によるG-分染標本の分析によって確認された。

安定型異常の型や頻度が非分染標本では正確に測定できないので、これらの異常を、放射線照射を受けた人の生物学的線量推定法として用いることにはまだ多くの未解決の問題が残っている。加えて、安定型異常の識別のための標準化された規準がまだない。したがって、安定型異常率について実験室間の比較をするのは、現在のところ、少なくとも非分染染色体標本を用いる場合は、困難であると思われる。こういった技法上の困難な点は種々の分染法を用いることによって排除されるが、詳細な核型分析のために質の高い分染標本を作成するには、多大な時間と経験が必要である。

このような基本的な困難があるので、従来の方法で染色された標本の分裂中期細胞は、構造上再配列の見られる染色体が存在するかどうかについてのみ検査された。したがって、今回の研究における線量-反応解析は、検査をされた分裂中期細胞全体における異常細胞の頻度に基づいているのであり、異常それ自体の頻度によるものではない。

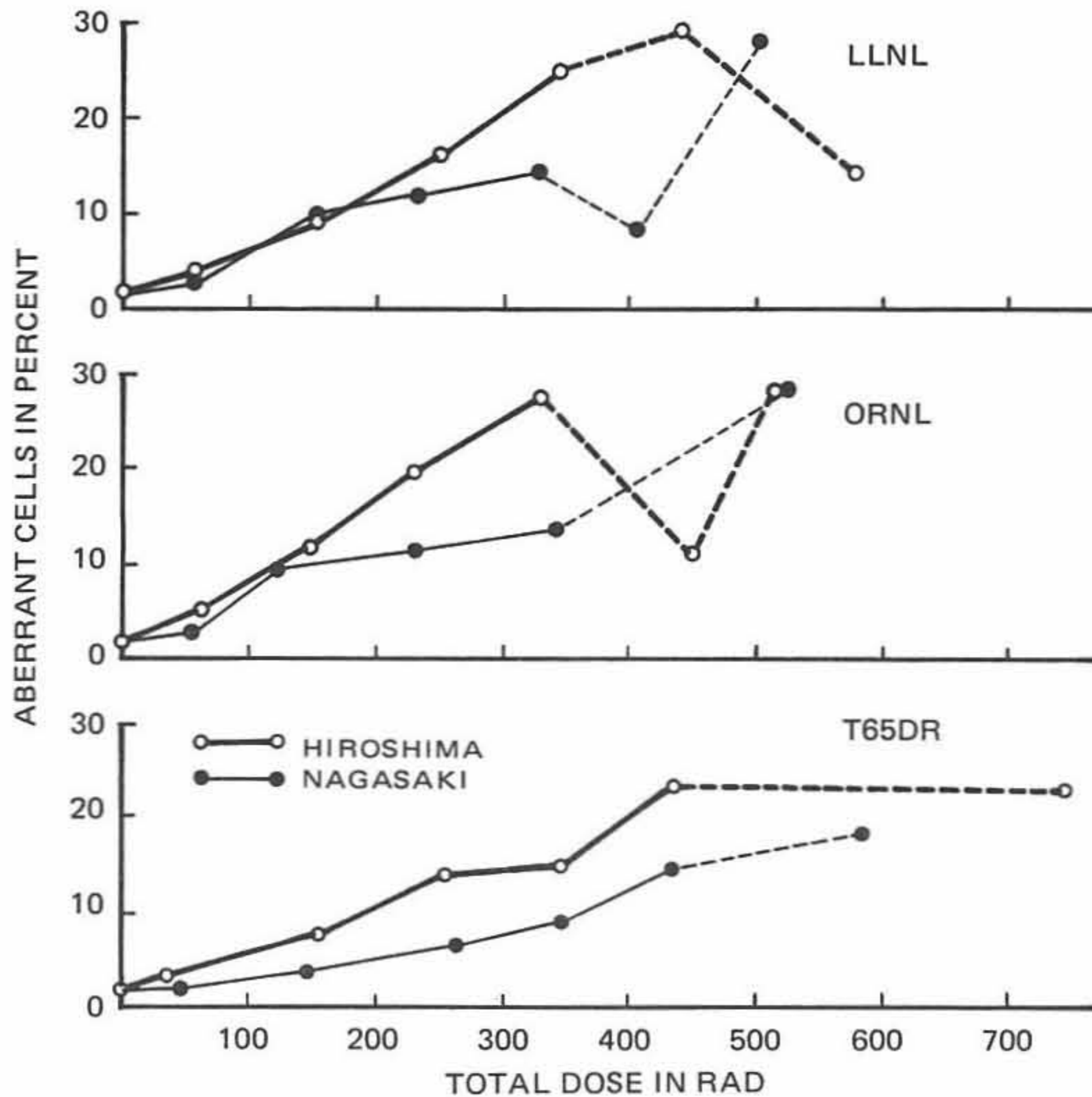
表1には都市別、並びにT65DR方式、ORNL方式及びLLNL方式線量推定法による線量別の異常細胞の頻度を示した。線量推定法別に両市間で比較した異常頻度を図1に示した。なお、図中の破線は線量区分を表すには例数が少なすぎる場合を表している。

これらの資料から分かるように、T65DR方式の線量推定法によると、異常細胞の頻度における両市間の差異は各線量群とも広島の方が長崎よりも一貫して高い。これも前回の所見¹を確認するものである。

頻度をORNL方式及びLLNL方式の線量推定法を用いてプロットすると、両市の線量-反応曲線は、T65DR方式による曲線(図1)よりも互いにずっと近接している(特に、200rad以下)。ORNL方式とLLNL方式による高線量群の観察例数は、厳密な

FIGURE 1 FREQUENCY OF ABERRANT CELLS BY DOSE SYSTEM, CITY, AND TOTAL DOSE

図1 異常細胞の頻度，線量推定方式，都市及び総線量別



sufficient to warrant strict statistical analysis, aberration frequency is generally higher in Hiroshima than in Nagasaki in the high dose groups. The reason for these intercity differences remains unclear.

This preliminary analysis seems to indicate that on the basis of the ORNL and LLNL dose estimates, the dose-response curves for Hiroshima and Nagasaki resemble each other more closely than do those derived from the T65DR dosimetry.

REMARKS

In the previous study, a difference in aberration frequency was observed between Hiroshima and Nagasaki, and the shape of the dose-response curve appeared to be linear for Hiroshima and exponential for Nagasaki. One possible interpretation for this intercity difference was thought to be the difference in radiation spectra between the two cities, based on T65DR dosimetry. The increased level of the neutron component in Hiroshima was thus considered to be

統計的解析をするには不十分であるが、高線量群における異常頻度は長崎よりも広島の方が総じて高い。両市間にこういった差異が生じる理由は明瞭ではない。

この予備解析は、提案された ORNL 方式及び LLNL 方式の線量推定法に基づいた場合、T65DR 方式を用いた場合よりも、広島と長崎の線量-反応曲線が互いに近似していることを示すと思われる。

考 察

前回の研究では、広島と長崎との間に異常頻度の差が観察され、線量-反応曲線は広島では直線形、長崎では指数関数形を示した。両市間のこの差異に対する一つの説明として、T65DR 線量推定法に基づく両市の放射線スペクトルの差異が挙げられた。したがって広島では、中性子レベルが高いことが各線量域の

responsible in part for the elevated aberration frequency at every dose range.

Recent reevaluation of the T65DR system together with shielding factors for individual survivors, suggests that the dose-response curve for Nagasaki may not be exponential as had been previously reported, but linear. This supposition is reinforced if the cytogenetic data derived from a subgroup of survivors who were irradiated in a factory in Nagasaki are excluded from consideration because of large ambiguities in the shielding factors.

Given the uncertainties (shielding and attenuation factors, among others) inherent in the current (and earlier) dose estimates for the Hiroshima and Nagasaki survivors, any conclusion concerning the correctness of any one estimation over the others is premature. Further collection of cytogenetic data, now in progress, constitutes a basic part of the biological dose reappraisal program currently underway.

異常頻度を増加させることに部分的に関与していると考えられた。

個々の被爆者の遮蔽係数を含めた T65DR 方式による推定線量に対する再評価が最近行われ、長崎の線量-反応曲線が前回報告されたような指数関数形でなく直線形になる可能性が示唆された。長崎の工場内で被爆した被爆者の小集団から得た細胞遺伝学的資料は、遮蔽係数に不明瞭な点が多いので考察の対象としないならば、上記の可能性は大きくなる。

現行(あるいは以前)の広島・長崎の被爆者の線量推定に、固有の不確定要素(なかならず、遮蔽及び減弱係数)があるとすれば、一つの推定線量がほかのものよりその正確性において勝るという結論は早急には出せない。現在進行中の細胞遺伝学的資料収集を更に進めることが、既に進行している生物学的線量再評価プログラムの基礎となる。

REFERENCES

参考文献

1. AWA AA, SOFUNI T, HONDA T, ITOH M, NERIISHI S, OTAKE M: Relationship between radiation dose and chromosome aberrations in atomic bomb survivors of Hiroshima and Nagasaki. *J Radiat Res* 19:126-40, 1978 (RERF TR 12-77)
2. AUXIER JA, CHEKA JS, HAYWOOD FF, JONES TD, THORNGATE JH: Free-field radiation-dose distributions from the Hiroshima and Nagasaki bombings. *Health Phys* 12:425-9, 1966
3. MILTON RC, SHOHOJI T: Tentative 1965 radiation dose estimation for atomic bomb survivors, Hiroshima and Nagasaki. ABCC TR 1-68
4. KATO H, SCHULL WJ: Studies of the mortality of A-bomb survivors 7. Mortality 1950-78: Part 1. Cancer mortality. *Radiat Res* 90:395-432, 1982 (RERF TR 12-80)
5. LOEWE WE, MENDELSON E: Revised dose estimates at Hiroshima and Nagasaki. *Health Phys* 41: 663-6, 1981
6. KERR GD: Review of dosimetry for the atomic bomb survivors. Paper presented at Fourth Symposium on Neutron Dosimetry, Gesellschaft für Strahlen und Umweltforschung, Munich-Neuherberg, 1-5 June 1981
7. SOFUNI T, SHIMBA H, OHTAKI K, AWA AA: A cytogenetic study of Hiroshima atomic bomb survivors. In *Mutagen-induced Chromosome Damage in Man*. Ed by EVANS HJ, LLOYD DC. Edinburgh University Press, 1978. pp 108-14
8. OHTAKI K, SHIMBA H, SOFUNI T, AWA AA: Comparison of type and frequency of chromosome aberrations by conventional and G-staining methods in Hiroshima atomic bomb survivors. RERF TR 24-81