

**DOSE-CHROMOSOME ABERRATION RELATION IN CULTURED BLOOD CELLS
OF ATOMIC BOMB SURVIVORS OF HIROSHIMA AND NAGASAKI**

広島・長崎原爆被爆者の培養白血球における線量と染色体異常との関係

A PRELIMINARY REPORT

予 報

AKIO A. AWA, Sc. D. 阿波 章夫
SHOTARO NERIISHI, M. D. 鍊石昇太郎
TAKEO HONDA, Sc. D. 本田 武郎
MICHIHIRO C. YOSHIDA, Sc. D. 吉田 勉弘
TOSHIO SOFUNI, Sc. D. 祖父尼俊雄
TAKASHI MATSUI, M. A. 松井 敬



ATOMIC BOMB CASUALTY COMMISSION

国立予防衛生研究所 - 原爆傷害調査委員会

JAPANESE NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH OF THE MINISTRY OF HEALTH AND WELFARE

TECHNICAL REPORT SERIES

業績報告書集

The ABCC Technical Reports provide the official bilingual statements required to meet the needs of Japanese and American staff members, consultants, advisory councils, and affiliated government and private organizations. The Technical Report Series is in no way intended to supplant regular journal publication.

ABCC業務報告書は、ABCCの日本人および米人専門職員、顧問、評議会、政府ならびに民間の関係諸団体の要求に応じるための日英両語による記録である。業績報告書集は決して通例の誌上発表に代るものではない。

DOSE-CHROMOSOME ABERRATION RELATION IN CULTURED BLOOD CELLS
OF ATOMIC BOMB SURVIVORS OF HIROSHIMA AND NAGASAKI

広島・長崎原爆被爆者の培養白血球における線量と染色体異常との関係

A PRELIMINARY REPORT

予 報

AKIO A. AWA, Sc.D. 阿波 章夫
SHOTARO NERIISHI, M.D. 鍊石昇太郎
TAKEO HONDA, Sc.D. 本田 武郎
MICHIMIRO C. YOSHIDA, Sc.D. 吉田 勉弘
TOSHIO SOFUNI, Sc.D. 祖父尼俊雄
TAKASHI MATSUI, M.A. 松井 敬



ATOMIC BOMB CASUALTY COMMISSION
HIROSHIMA AND NAGASAKI, JAPAN

A Cooperative Research Agency of
U.S.A. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES - NATIONAL RESEARCH COUNCIL
and
JAPANESE NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH OF THE MINISTRY OF HEALTH AND WELFARE
with funds provided by
U.S.A. ATOMIC ENERGY COMMISSION
JAPANESE NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH
U.S.A. PUBLIC HEALTH SERVICE

原 爆 傷 害 調 査 委 員 会

広島および長崎

米国学士院 - 学術会議と厚生省国立予防衛生研究所
との日米共同調査研究機関

米国原子力委員会、厚生省国立予防衛生研究所および米国公衆衛生局の研究費による

ACKNOWLEDGMENT

謝 辞

We sincerely thank Dr. Howard B. Hamilton, Chief of Department of Clinical Laboratories, ABCC, for his advice and improvement of this report. We are also indebted to Mr. Kazumi Tanabe and Mrs. Yoko Urakawa and their colleagues for their technical assistance throughout this study.

著者らは、本報告書に加筆下さり、また、助言を賜った ABCC 臨床検査部長 Dr. Howard B. Hamilton に対し深く感謝する。また、本調査を遂行するにあたり技術的援助をいただいた田辺和美氏、浦川陽子氏およびその他の研究室技術員に対しても謝意を表する。

~~~~~

A paper based in part on this report was presented at the 4th International Congress of Radiation Research, 29 June-4 July, 1970, Evian, France

本論文の一部は、1970年6月29日～7月4日にフランスのエヴィアンで開催された第4回国際放射線学会で発表した。

A paper based on this report was published in the following journal:

本報告に基づく論文は下記の雑誌に発表した。

Lancet 2 : 903-5, 1971

## CONTENTS

### 目 次

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| Summary 要 約                       | 1  |
| Introduction 緒 言                  | 2  |
| Material and Methods 材料および方法      | 2  |
| Results 結 果                       | 4  |
| Discussion and Conclusion 考察および結論 | 6  |
| Appendix 付 録                      | 8  |
| References 参考文献                   | 10 |

#### Table 1 Cytogenetic findings in Hiroshima and Nagasaki A-bomb survivors

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| 表 広島および長崎の原爆被爆者における細胞遺伝学的所見 | 5 |
|-----------------------------|---|

#### Appendix Tables

##### 付 表

|                                                                                                                                              |   |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| 1 Moment and maximum likelihood estimates of the parameters $\alpha$ and $\beta$<br>モーメント法および最大尤度法による $\alpha$ および $\beta$ パラメーターの推定値        | 9 |
| 2 Observed vs theoretical proportions of subjects with 0, 1, 2 .....cells with<br>unstable type aberrations<br>不安定異常を示す細胞を有する対象者の観察値および理論的割合 | 9 |

#### Figure 1 Distribution of cells with aberrations by dose in A-bomb survivors of Hiroshima

|                               |   |
|-------------------------------|---|
| 図 広島の前爆被爆者にみられた異常を有する細胞の線量別分布 | 6 |
|-------------------------------|---|



Approved 承認 15 July 1971

**DOSE-CHROMOSOME ABERRATION RELATION IN CULTURED BLOOD CELLS  
OF ATOMIC BOMB SURVIVORS OF HIROSHIMA AND NAGASAKI**

広島・長崎原爆被爆者の培養白血球における線量と染色体異常との関係

**A PRELIMINARY REPORT**

予 報

AKIO A. AWA, Sc. D. (阿波章夫)<sup>1\*</sup>; SHOTARO NERIISHI, M.D. (鍊石昇太郎)<sup>1</sup>;  
TAKEO HONDA, Sc.D. (本田武郎)<sup>1</sup>; MICHIIHIRO C. YOSHIDA, Sc.D. (吉田勉弘)<sup>1</sup>;  
TOSHIO SOFUNI, Sc.D. (祖父尼俊雄)<sup>1\*</sup>; TAKASHI MATSUI, M.A. (松井 敬)<sup>2</sup>

*Departments of Clinical Laboratories<sup>1</sup> and Statistics<sup>2</sup>*

臨床検査部<sup>1</sup>および統計部<sup>2</sup>

**SUMMARY.** A total of 243 heavily exposed survivors of the atomic bombs of Hiroshima and Nagasaki, and 213 distally exposed controls of all ages were examined cytogenetically. Using a 2-day-culture method, it was found that there was an increase in the frequency of cells with radiation-induced chromosome aberrations proportional to radiation dose. Cells with stable type aberrations, such as translocations and pericentric inversions, predominated, although cells with dicentrics and rings were also present to a lesser degree. All these aberrations were greater in frequency in the exposed than the controls. In vivo clones of aberrant cells were seen in 14 heavily exposed persons. A difference was noted between the two cities in the frequencies of stable and unstable aberrations in each dose group. The reason for this discrepancy is not known at present.

**要約.** 広島・長崎の各年齢層に属する243名の強度被曝者ならびに213名の遠距離被爆の対照者について、細胞遺伝学的調査を行なった。2日間培養法による検査から、放射線誘発性の染色体異常を示す細胞の頻度が放射線量に比例して増加することが判明した。安定型異常、つまり転座や逆位を示す異常細胞が大部分を占めており、低頻度ではあるが、二動原体染色体や環状染色体を示す細胞もみられた。これらすべての異常の頻度は対照群より被曝群のほうが高かった。強度被曝者14例に異常細胞のクローンがみられた。両市の間では、どの線量群においても、安定型ならびに不安定型異常の出現頻度に差異が認められた。この差についての理由は現在まだ不明である。

**Keyword: Chromosome aberration; Dose-aberration; Cultured lymphocytes; Aberrant clones**

\*Hiroshima Branch Laboratory, Japanese National Institute of Health, Ministry of Health and Welfare  
厚生省国立予防衛生研究所広島支所

## INTRODUCTION

It is well known that cells with radiation-induced chromosome aberrations persist in the circulating blood in man long after exposure to ionizing radiation<sup>1</sup> (see the United Nations Scientific Report, paragraphs 216-251, 1969). Although it has been confirmed by many in vitro experiments that the frequency of aberrant cells caused by ionizing radiation is related closely to the radiation dose administered, it is still unclear whether or not the relation is also demonstrable in somatic cells long after in vivo irradiation. Bloom et al.<sup>2</sup> suggested from a cytogenetic study, using 3-day-culture of circulating lymphocytes from older survivors of the atomic bombs of Hiroshima and Nagasaki a possible correlation of increased frequency of chromosome aberrations with the estimated dose. A similar trend was also found by Ishihara and Kumatori<sup>3</sup> in cultured blood cells from fishermen exposed to nuclear fallout from the explosion at Bikini.

Recently, Sasaki and Miyata<sup>4</sup> have shown that the frequency of both stable and unstable chromosome aberrations in circulating lymphocytes provides a reasonably good estimate for absorbed dose in A-bomb survivors of Hiroshima.

The present report is a preliminary description of a further chromosome study of A-bomb survivors of Hiroshima and Nagasaki, in an attempt to clarify the relation between the frequency of cells with radiation-induced chromosome aberrations and estimated dose.

## MATERIAL AND METHODS

### Selection of the Sample

The individuals on whom cytogenetic studies were conducted were selected on the basis of tentative dose estimates<sup>5,6</sup> from participants in the ABCC-JNIH Adult Health Study. This population sample comprises A-bomb survivors and nonexposed comparison subjects resident in Hiroshima and Nagasaki described in detail elsewhere.<sup>7,8</sup>

Subjects who reported receiving fluoroscopy, radiation therapy or radioisotope exposure at any time were excluded from the present study. All who received any diagnostic X-radiation other than chest roentgenography at ABCC in the preceding year were also excluded. With these exclusions, we were able to examine 130 proximally exposed

## 緒 言

放射線誘発性の染色体異常を示す細胞が、電離放射線被曝後、長期間にわたり人体の循環血液中に認められることはよく知られている。(1969年国連科学委員会報告216-251節参照)<sup>1</sup>。電離放射線によって誘発される異常細胞の頻度と放射線被曝量との間には密接な関係が存在することは、多くの試験管内実験で確認されているが、同様の関係が、生体内被曝から長期間経過した後の体細胞にも認められるか否かはいまだに不明である。Bloomら<sup>2</sup>は、末梢血リンパ球の3日間培養法を用いて広島および長崎の高年齢被曝者の細胞遺伝学的調査を行なった結果、染色体異常の頻度の増加と推定線量との間に相関関係があるのではないかと示唆した。石原および熊取<sup>3</sup>は、Bikiniの核実験による放射性降下物に被曝した漁夫の培養血球にも同様な傾向を認めた。

最近、佐々木および宮田<sup>4</sup>は、血流中のリンパ球の安定型ならびに不安定型異常の出現頻度に基づいて広島原爆被曝者が受けた線量をかなり正確に推定できると報告した。

本報告は、広島および長崎の原爆被曝生存者について、放射線誘発性の染色体異常を示す細胞の頻度と推定線量との関係の究明を目的として行なったその後の染色体調査の予報である。

## 材料および方法

### 対象群の選択

細胞遺伝学的調査対象者は、ABCC一予研成人健康調査対象者の中から暫定線量推定値<sup>5,6</sup>を基準にして選択した。この成人健康調査対象群は、広島および長崎に居住する原爆被曝者および非被曝比較対照群から成っており、その詳細は別に報告されている。<sup>7,8</sup>

透視診断、放射線治療あるいはラジオアイソトープ照射を受けたことがあると答えた者は本調査対象から除外した。また、過去1年間にABCCにおける胸部X線撮影以外の診断用X線の照射を受けた者も除外した。以上に該当する者を除外した後、近距離で被曝し、推定被曝線量が100 rad以上である

individuals in Hiroshima and 113 in Nagasaki both males and females whose estimated doses were greater than 100 rad. For comparison, 134 distally exposed in Hiroshima and 79 in Nagasaki with estimated doses of less than 1 rad were studied.

The proximally exposed individuals were further divided into five groups according to their estimated doses: i. e., 100-199 rad, 200-299 rad, 300-399 rad, 400-499 rad and more than 500 rad, to see if any dose-aberration relation could be discerned. Individuals with an estimated dose of over 1000 rad were excluded from consideration. The study herein reported covers the period from January 1968 to February 1969.

## METHODS

Peripheral blood samples obtained from each person were cultured according to minor modifications of the method of Moorhead et al<sup>9</sup> and Bloom and Iida.<sup>10</sup> The culture was terminated for microscopic examination after not longer than 54 hours of incubation, with colchicine being added 2 hours before harvesting. Therefore, most of the observed metaphases were most likely in the first in vitro cell division.<sup>11-13</sup>

All slides were given a code number, and were observed without knowledge of exposure status. An attempt was made to examine 100 metaphases in each case. However, the average number of cells examined per person was 99 in Hiroshima and 94 in Nagasaki, because there were a few cases with poor mitoses in which 30 metaphases were the minimum number accepted for the present analysis. The chromosomes were grouped directly under the microscope. All of the cells with definite or suspected structural aberrations detected by direct microscopy were photographed for karyotype analysis. Chromosome aberrations were confirmed in the final analysis by at least two senior cytogeneticists.

The classification of chromosome aberrations used here was basically the same as that described in other studies (c.f. UN Report, 1969, paragraphs 24-50).<sup>1</sup> However, the aberration referred to as "deletion" used throughout the present study is similar in nature to "SD" described by Ishihara and Kumatori.<sup>14,15</sup> This abnormality might be caused either by a terminal or interstitial deletion of a

男女合わせて広島で130名、長崎で113名について調査を行なった。対照群として、推定線量が1 rad 以下である遠距離被爆者を広島で134名、長崎で79名選んだ。

さらに、近距離被爆者については、線量と異常との関係が認められるか否かを明らかにするため、100~199 rad, 200~299 rad, 300~399 rad, 400~499 rad および 500 rad 以上の五つの推定線量群に分類した。推定線量が1000 rad 以上の者は調査の対象には加えなかった。本報告の調査は1968年1月から1969年2月の期間に行なわれたものである。

## 方 法

各対象者から採取した末梢血液試料は、Moorhead<sup>9</sup>ならびに Bloom および 飯田<sup>10</sup> の培養法に若干の修正を加えた変法によって培養した。培養は54時間以内で終え、細胞採取2時間前にコルヒチンを加えた。したがって、観察時に分裂中期にあった細胞のほとんどが、試験管内における第1回目の細胞分裂中のものであったと考えられる。<sup>11-13</sup>

すべての標本にコード番号をつけ、被爆状態がわからないようにして観察を行なった。各例について100個の分裂中期細胞を検査する計画であったが、細胞分裂の乏しい例が数例あったので、本解析のために必要な分裂中期細胞数は最低30個とした。その結果、一人当たりの細胞平均数は広島で99個、長崎で94個となった。染色体は顕微鏡下で直接分類した。検鏡で直接明確な構造異常またはその疑いがあると認められた細胞は、核型分析のため、すべて写真撮影を行なった。染色体異常は、少なくとも二人の主席細胞遺伝学者による最終的検査で確認した。

本調査で用いた染色体異常の分類方法は、他の調査と基本的には等しかった(1969年国連報告24~50節参照)<sup>1</sup> が、本調査で「欠失」と呼んでいる異常は、石原および熊取<sup>14,15</sup> が記述した“SD”と性状上類似している。この異常は、染色体の末端部または中間部の欠失か、あるいは相互転座の一部に起因するものではないかと思われる。前者は、少なくとも



chromosome, or by part of a reciprocal translocation. The former is more likely to be the product of at least first postirradiation cell division resulting in the loss of the deleted chromosomal material, while the latter is an exchange aberration of unidentifiable type.

Cells with single and iso-chromatid aberrations were not included in the present data, since these aberrations are considered to be of little importance in the evaluation of late radiation effects on somatic chromosomes *in vivo*.<sup>2,16</sup>

Analysis of our findings was based on the number of cells with aberrations rather than the number of aberrations per se. Furthermore, cells with exchange aberrations were also scored separately to test for a dose-aberration response relationship.

## RESULTS

The cytogenetic findings are summarized in Table 1. The difference in the frequencies of cells with aberrations between control and exposed groups in both cities is striking: while 1% of control cells in both cities had one or more chromosomal aberrations, 7.7% of cells from heavily exposed Hiroshima survivors and 2.8% of cells from Nagasaki survivors were abnormal. Figure 1 shows the distributions of percentage aberrations for individuals within exposure groups in Hiroshima. The distributions overlap a great deal. However, among the five exposure groups, the average percentage of cells with aberrations as well as the percentage of cells with exchanges increases as the dose increases.

It is worth mentioning here that the frequencies of cells with unstable acentric fragments did not always increase with increasing dose except among the higher dose groups in Hiroshima. This suggests that an unknown proportion of cells classified as acentric fragments might arise from terminal deletion, and may not be related to radiation-exposure but are artifacts resulting from the technical procedure.

Of the aberrant cells scored, the preponderance of cells with translocations and pericentric inversions, or stable type aberrations, was striking in every dose class, and these aberrant cells constituted the major component contributing evidence of dose-aberration relation. In contrast to cells

も被爆後細胞の第1回目の分裂の際に生じた欠失染色体物質の消失の結果である可能性が強いのに対し、後者は同定不可能な交換型異常である。

単一および等位の染色分体の異常をもつ細胞は、生体内の体細胞染色体に対する放射線の後影響を評価するうえにほとんど重要性がないため、本調査の資料には加えなかった。<sup>2,16</sup>

本調査結果の解析は、異常自体の数ではなく異常を示した細胞の数をもとに行なった。また、線量と異常との関係をみるため、交換型の異常を示す細胞についても別個に検討した。

## 結 果

細胞遺伝学的所見を表1に要約した。両市とも対照群と被爆群との間における異常細胞の頻度の差が注目される：対照群では、染色体異常を一つまたはそれ以上示す細胞が両市とも1%に認められたのに対し、広島の高線量被曝者では7.7%、長崎の被曝者では2.8%に異常が認められた。図1には、広島の高線量被曝群における異常の百分率分布を示した。この分布にはかなりの重複がある。しかし、五つの被曝群についてみれば、異常を示す細胞の平均百分率および交換型の異常を示す細胞の百分率は線量の増加に伴って増加している。

不安定型染色体断片を有する細胞の頻度が、広島の高線量群を除いては、必ずしも線量の増加に伴って高くなってはいないことは注目に値する。このことは、染色体断片として分類された細胞が、その割合は明らかではないが、末端部欠失によって生じたものであるとも考えられ、また放射線被曝には関係なくて、標本処理の際に生じた人工産物であるかもしれないことを示唆するものである。

観察された異常細胞のうち、安定型異常、すなわち、転座あるいは逆位を有する細胞がどの線量群においても大部分を占めており、これらの異常細胞が、線量と異常との関係を生じさせる主要な要因となっている。安定型異常を示す細胞とは反対に、不安定型異常、つまり二動原体染色体や環状染色

TABLE 1 CYTOGENETIC FINDINGS IN HIROSHIMA AND NAGASAKI A-BOMB SURVIVORS

表1 広島および長崎の原爆被爆者における細胞遺伝学的所見

| Exposure group<br>被爆群<br>(rad) | Mean dose<br>平均線量<br>(rad) | Subjects<br>対象者数 | Cells<br>observed<br>観察細胞数 | Number of cells with<br>異常細胞数 |          |            |          | Total<br>総数 | Total<br>Exchanges<br>交換型<br>異常総数 |
|--------------------------------|----------------------------|------------------|----------------------------|-------------------------------|----------|------------|----------|-------------|-----------------------------------|
|                                |                            |                  |                            | dic+r                         | ace      | t+inv      | del      |             |                                   |
| <b>HIROSHIMA 広島</b>            |                            |                  |                            |                               |          |            |          |             |                                   |
| Distal (%)<br>遠距離              | —                          | 134              | 13289                      | 24 (.18)                      | 28 (.21) | 80 (.60)   | 12 (.09) | 144(1.08)   | 106 (.80)                         |
| Total<br>exposed(%)<br>被爆者合計   | 252.4                      | 130              | 12852                      | 74 (.58)                      | 34 (.26) | 809 (6.29) | 71 (.55) | 988 (7.70)  | 893 (6.95)                        |
| 100-199(%)                     | 144.9                      | 59               | 5859                       | 24 (.41)                      | 15 (.26) | 199 (3.40) | 20 (.34) | 258 (4.40)  | 226 (3.86)                        |
| 200-299(%)                     | 243.0                      | 36               | 3574                       | 20 (.56)                      | 7 (.20)  | 226 (6.32) | 23 (.64) | 276 (7.72)  | 248 (6.94)                        |
| 300-399(%)                     | 352.8                      | 18               | 1750                       | 18 (1.03)                     | 4 (.23)  | 157 (8.97) | 12 (.69) | 191(10.91)  | 178(10.17)                        |
| 400-499(%)                     | 442.2                      | 11               | 1069                       | 8 (.75)                       | 4 (.37)  | 117(10.94) | 10 (.94) | 139(13.00)  | 126(11.79)                        |
| 500+ (%)                       | 716.5                      | 6                | 600                        | 4 (.67)                       | 4 (.67)  | 110(18.33) | 6 (1.00) | 124(20.67)  | 115(19.17)                        |
| <b>NAGASAKI 長崎</b>             |                            |                  |                            |                               |          |            |          |             |                                   |
| Distal (%)<br>遠距離              | —                          | 79               | 7418                       | 17 (.23)                      | 17 (.23) | 25 (.34)   | 10 (.13) | 69 (.93)    | 44 (.59)                          |
| Total<br>exposed(%)<br>被爆者合計   | 244.8                      | 113              | 10478                      | 28 (.27)                      | 32 (.31) | 203 (1.94) | 29 (.28) | 292 (2.79)  | 236 (2.25)                        |
| 100-199(%)                     | 142.3                      | 47               | 4423                       | 11 (.25)                      | 11 (.25) | 33 (.75)   | 6 (.14)  | 61 (1.38)   | 44 (.99)                          |
| 200-299(%)                     | 246.7                      | 40               | 3791                       | 9 (.24)                       | 14 (.37) | 66 (1.74)  | 14 (.37) | 103 (2.72)  | 79 (2.08)                         |
| 300-399(%)                     | 350.4                      | 12               | 1051                       | 3 (.29)                       | 3 (.29)  | 12 (1.14)  | 1 (.10)  | 19 (1.81)   | 15 (1.43)                         |
| 400-499(%)                     | 436.1                      | 10               | 847                        | 4 (.47)                       | 3 (.35)  | 46 (5.43)  | 8 (.94)  | 61 (7.20)   | 51 (6.02)                         |
| 500+ (%)                       | 636.0                      | 4                | 366                        | 1 (.27)                       | 1 (.27)  | 46(12.57)  | 0        | 48(13.11)   | 47(12.84)                         |

dic: dicentric (and multicentric); r: ring; ace: acentric fragment; t: reciprocal translocation;

inv: pericentric inversion; del: deletion

dic: 二動原体染色体(および複動原体染色体), r: 環状染色体, ace: 染色体断片, t: 相互転座, inv: 逆位, del: 欠失

with stable type aberrations, the cells with dicentrics and rings, or unstable type aberrations, were less frequent, though there was a suggestive increase with increasing dose.

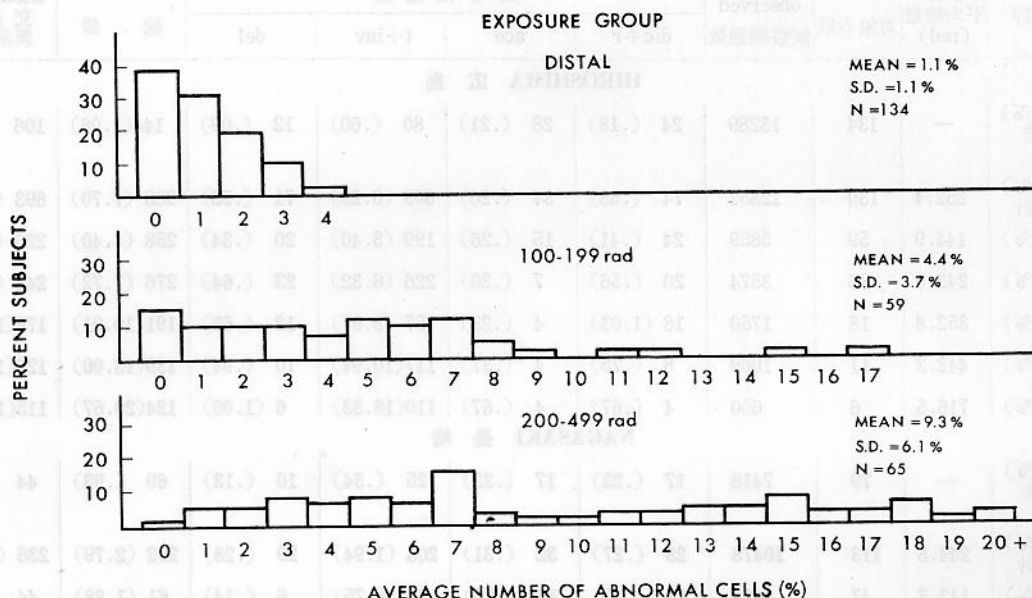
Clones of aberrant cells in vivo, each of which consisted of at least two or more cells with an identical abnormal karyotype from one individual, were seen in 14 exposed cases, 10 in Hiroshima and 4 in Nagasaki, and none were seen in the controls. The aberrations detected in all of these cases were of the stable type, that is, translocations, pericentric inversions and occasionally deletions. Clones were found more frequently in heavily exposed persons: of the 14 clone formers, 11 received an estimated dose of over 200 rad, the remaining having received 100 to 299 rad.

体を有する細胞の頻度は、線量の増加に伴って増加することが示唆されたものの、その頻度はより低かった。

生体内の異常細胞のクローン形成が被爆者14例に認められ、それぞれのクローンには、1例につき、同一の核型異常を有する細胞が少なくとも2個またはそれ以上あった。この14例中10例が広島、4例が長崎であり、対照群には1例も認められなかった。これらの例にみられた異常はいずれも安定型、すなわち、転座および逆位であり、わずかながら欠失もみられた。クローンの出現頻度は強度被爆群において高かった：クローン保有者14名のうち、11名の推定線量は200 rad以上で、残りは100-299 radであった。

Figure 1 DISTRIBUTION OF CELLS WITH ABERRATIONS BY DOSE IN A-BOMB SURVIVORS OF HIROSHIMA

図1 広島原爆被爆者にみられた異常を有する細胞の線量別分布



## DISCUSSION AND CONCLUSION

Our cytogenetic findings support recent evidence that the yield of cells with radiation-induced chromosome aberration is directly related to the radiation exposure dose.<sup>1</sup> Of particular importance in our study is the fact that not only does a difference exist in the frequencies of aberrant cells between control and A-bomb survivors, but also the dose-aberration relationship is demonstrable in these survivors over a range of radiation doses, more than 20 years after exposure.

The cells with unstable type aberrations such as dicentric, rings and terminal deletions (or acentric fragments) have been widely used as a sensitive indicator to measure absorbed radiation dose in cultured human lymphocyte system both in vivo and in vitro.<sup>1</sup> On the other hand, it has asserted that the use of cells with stable type aberrations is rather unreliable in evaluating the relation between exposure dose and the yield of aberrations.<sup>1</sup>

Nonetheless, Sasaki and Miyata<sup>4</sup> suggested the feasibility of using cells with stable type aberrations to estimate the

## 考察および結論

われわれの細胞遺伝学的所見は、放射線誘発性染色体異常を示す細胞の出現が放射線被曝線量に直接関係しているとする最近の資料を裏付けるものである。<sup>1</sup> 本調査で特に重要と思われる点は、被爆後20年以上経た後も、異常細胞の頻度に、対照群と被爆群との間に差異が認められたばかりでなく、被爆者の各線量群にわたって線量と異常との関係が認められたことである。

生体内あるいは試験管内実験において、ヒトの培養リンパ球系細胞の二動原体染色体、環状染色体、および末端部欠失(または染色体断片)などの不安定型異常を有する細胞が、吸収線量を測定する場合の敏感な指標として広く用いられている。<sup>1</sup> 一方、被曝線量と異常の出現程度との関係の評価する場合に安定型異常を示す細胞を用いることは比較的信頼性がないことが指摘されている。<sup>1</sup>

しかし、佐々木および宮田<sup>4</sup>は、広島市の被爆者の被曝線量を推定する際には安定型異常を示す細胞を用いることが可能



absorbed dose in A-bomb survivors of Hiroshima. The data presented here also show a positive correlation between an increasing frequency of stable type aberrations and increasing dose.

The predominance of stable type aberrations over the unstable type aberrations suggests that cells with unstable aberrations probably would have been eliminated from the lymphocyte population in vivo after A-bomb irradiation through mitotic events, since there is no reason to expect the preferential formation of stable aberrations when the cells were exposed to radiation.

A comparison of the data from Hiroshima and Nagasaki shows a difference between the two cities in the frequencies of aberrant cells in each dose group. Judging from the frequencies of cells with dicentrics and rings, whose features are most objectively and easily compared, there is no difference in the control values, approximately 0.2% in both cities (see Table 1). But in every dose group among the proximally exposed, the frequency of aberrant cells was higher in Hiroshima than in Nagasaki. It is not clear whether the difference between the two cities is real or not. If present, it may in part be ascribable to the difference of the radiation spectrum: the ratio of neutron to gamma was from 1:3 to 1:5 in Hiroshima, while gamma radiation contributed almost the total dose in Nagasaki.<sup>5,6</sup> Only with the accumulation of more data will we be able to determine whether the differing frequencies are related to differences in the relative biological effectiveness of neutrons compared with gamma radiation, an approach suggested by other recent reports from ABCC with respect to epilation, bleeding, leukemia incidence and radiation cataract.<sup>17,18</sup>

There were 14 cases of clone formers, 10 in Hiroshima and 4 in Nagasaki, each with at least two or more cells having an identical stable type abnormal karyotype. However, it is possible that the apparently identical chromosome aberration detectable in two or more cells in the same specimen could have arisen as independent phenomena, and merely resembled each other superficially. This can only be confirmed by a repeat examination of another sample from the same individual taken on another occasion, using one of the newly developed techniques that can identify each chromosome pair quite precisely.<sup>19,20</sup> The biological implication of the abnormal lymphocyte clone among circulating white blood cells remains unclear; whether

であることを示唆している。本報告の資料でも、線量の増加と安定型異常の頻度との間に正の相関が認められる。

不安定型異常に比べ安定型異常が多いということは、おそらく、不安定型異常を示す細胞が被曝後に細胞分裂の過程を通じて生体内のリンパ球集団から消失したことを示すものと思われる。というのは、細胞が放射線に被曝した場合、安定型異常のほうが選択的により多く形成されると考える理由はないからである。

広島および長崎の資料の比較により、いずれの線量群にも、異常細胞の頻度においても両市間に差異のあることが認められた。最も客観的にかつ容易に比較しうるといふ特徴を有する二動原体染色体および環状染色体を示す細胞の頻度についてみる場合、対照群では両市ともほぼ0.2%であって差異は認められない(表1参照)。しかし、近距離被曝者では、いずれの線量群においても異常細胞の頻度は長崎よりも広島のほうが高かった。両市間のこの差異が真に存在するか否かは不明である。もし実在するとすれば、その原因の一つは、放射線スペクトルの差にあるとも考えられる: 広島では中性子線とガンマ線との比率が1:3ないし1:5であったのに対し、長崎では、ガンマ線が総線量の大部分を占めていた。<sup>5,6</sup> 今後さらに資料が収集されることによるのみ、頻度の差が中性子線およびガンマ線の相対的生物学的効果の差異と関連するものか否かを決定できるであろう。相対的生物学的効果に関する検討は、脱毛、出血、白血病罹病率および放射線白内障に関する最近のABCCの他の報告によって示唆されたものである。<sup>17,18</sup>

クローン保有者は14例認められ、うち広島が10例、長崎が4例で、それぞれに、同一の安定型核型異常を示す細胞が少なくとも2個以上あった。しかし、一つの標本において、外見上同一の染色体異常が2個以上の細胞に認められたとしても、それが別個の現象として生じたもので、ただ表面的に類似していたにすぎないということも考えられる。このことは、他の機会にこれら同一の対象者からあらためて標本を採取し、最近新しく開発された染色体の各対を非常に厳密に確認できる技法<sup>19,20</sup>の一つを用いて再検査することにより初めて明らかにできるものである。循環血液中の白血球にみられる異常リンパ球のクローンに関する生物学的意義はいまだ不明である; このようなクローンが、原爆放射線被曝後、長期

such clones may be of importance in relation to the etiology of malignant neoplasms and other clinical entities developing in persons long after exposure to A-bomb radiation, remains to be seen and can be ascertained by continued surveillance of the population at risk.

The present study provides no information on those who received relatively low dose exposure, at doses ranging from 1 to 99 rad. The study of this group has become increasingly important to clarify the late somatic effect of atomic irradiation in man because of the abundance of such people in Hiroshima and Nagasaki. Also, low dose exposure from medical sources approximate this lower level of irradiation, and this group is therefore of particular practical concern.

A further detailed analysis from the statistical and cytogenetic points of view will be given fully elsewhere in the future to further clarify the dose-chromosome aberration relationship in somatic cells of A-bomb survivors. These studies will also include those who were not exposed and those who received low dose exposure.

## APPENDIX

### Probability Model

Let  $N$  be the number of cells examined for each person and  $X$  be the number of abnormal cells in  $N$  cells. Then for a given subject with the true fraction  $p$  of abnormal cells

$$p(X=x|p) = \binom{N}{x} p^x (1-p)^{N-x}$$

For each exposure group, we assume that the fraction of abnormal cells is distributed as a beta distribution.

Then, for each exposure group, we have the probability function of  $X$  as follows:

$$\begin{aligned} p(X=x) &= \int_0^1 p(X=x|p) \frac{1}{B(\alpha, \beta)} p^{\alpha-1} (1-p)^{\beta-1} dp \\ &= \binom{N}{x} \frac{B(X+\alpha, N-x+\beta)}{B(\alpha, \beta)} \end{aligned}$$

間たった後に人体に発現する悪性新生物およびその他の臨床的疾患の発現に関与するものか否かの究明は今後の課題であり、被爆者に関する調査を継続することにより確認できるであろう。

本調査では、1～99 radの比較的低い線量を受けた者に関する資料は集められていない。しかし、広島および長崎には低線量被曝者が多いことから、人体の体細胞に対する放射線の後影響を究明するためにはこの低線量群に関する調査がいっそう重要となってきた。また、医療用X線に起因する低線量は、この低線量群におけるものと近似しているため、この低線量群に関しては特に実際のな面からも関心が持たれる。

原爆被曝者の体細胞における線量と染色体異常との関係をいっそう明らかにするため、統計学および細胞遺伝学的見地から今後さらに詳細な解析を入念に行なう予定である。これらの調査では非被曝者および低線量被曝者も対象に加える計画である。

## 付 録

### 確率模型

1人当たりの検査細胞数を $N$ 、細胞数 $N$ のうちの異常細胞数を $X$ とする。異常細胞の真の割合を $p$ とするある特定の対象者について次の式が成り立つ。

それぞれの線量群における異常細胞の割合の分布はベータ分布であると仮定する。

そこで、それぞれの線量群に関して次のような $X$ の確率関数が得られる：



APPENDIX TABLE 1 MOMENT AND MAXIMUM LIKELIHOOD ESTIMATES OF THE PARAMETERS  $\alpha$  AND  $\beta$

付表1 モーメント法および最大尤度法による $\alpha$ および $\beta$ パラメーターの推定値

| Exposure Status<br>被爆状態 | Moment<br>モーメント法推定値 |               | Maximum Likelihood<br>最大尤度法推定値 |               |
|-------------------------|---------------------|---------------|--------------------------------|---------------|
|                         | $\hat{\alpha}$      | $\hat{\beta}$ | $\hat{\alpha}$                 | $\hat{\beta}$ |
| Distal Group<br>遠距離     | 2.222               | 568.4         | 2.363                          | 604.6         |
| 100-199 rad             | 6.135               | 876.7         | 7.764                          | 1109.5        |
| 300-399 rad             | 11.300              | 823.9         | 20.662                         | 1506.5        |

APPENDIX TABLE 2 OBSERVED VS THEORETICAL PROPORTIONS OF SUBJECTS WITH 0,1,2..... CELLS WITH UNSTABLE TYPE ABERRATIONS

付表2 不安定異常を示す細胞を有する対象者の観察値および理論的割合

| Exposure Status<br>被爆状態 | Method<br>方法        | Number of Cells with Unstable Type Aberrations<br>不安定型異常を有する細胞数 |      |      |      |      |      |      |
|-------------------------|---------------------|-----------------------------------------------------------------|------|------|------|------|------|------|
|                         |                     | 0                                                               | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    |
| Distal Group<br>遠距離     | Observed<br>観察値     | .695                                                            | .244 | .038 | .023 |      |      |      |
|                         | Moment M.<br>モーメント法 | .698                                                            | .232 | .056 | .012 | .002 |      |      |
|                         | M. L. E.<br>最大尤度法   | .697                                                            | .234 | .055 | .011 | .002 |      |      |
| 100-199 rad             | Observed            | .508                                                            | .339 | .119 | .017 | .017 |      |      |
|                         | Moment M.           | .516                                                            | .325 | .118 | .032 | .007 | .001 |      |
|                         | M. L. E.            | .513                                                            | .329 | .118 | .031 | .007 | .001 |      |
| 300-399 rad             | Observed            | .294                                                            | .294 | .235 | .118 | .059 |      |      |
|                         | Moment M.           | .276                                                            | .338 | .223 | .105 | .040 | .013 | .004 |
|                         | M. L. E.            | .267                                                            | .344 | .230 | .106 | .038 | .011 | .003 |

The effects of radiation on the chromosome aberration can be analyzed by comparing the  $p$  distributions of various exposure groups. From the distribution of number of abnormal cells in each exposure groups, two parameters of the  $p$  distribution can be estimated, from which the mean and standard deviation of the  $p$  distributions are calculated.

In order to see how well the above model fits our data, two parameters of  $p$  distributions are estimated by the moment method and maximum likelihood method and the theoretical distribution of the number of abnormal cells

染色体異常に対する放射線の影響は、それぞれの被曝群における  $p$  の分布を比較することにより解析できる。各被曝群の異常細胞数の分布から  $p$  分布の二つのパラメーターを推定でき、これにより  $p$  分布の平均値および標準偏差を計算できる。

上記の模型がどの程度われわれの資料と一致するかを検討するため、モーメント法および最大尤度法により  $p$  分布の二つのパラメーターを推定し、異常細胞数の理論的分布を計算

were computed. Appendix Tables 1 and 2 give the theoretical distribution with the observed distribution. The agreement is very close.

した。付表1, 2には理論的分布と観察値の分布とを示した。値は非常に近似していた。

#### REFERENCES

#### 参考文献

1. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, General Assembly document, 24th session, Suppl. No. 13 (A/7613). New York, United Nations, 1969
2. BLOOM AD, NERIISHI S, AWA AA, HONDA T, ARCHER PG: Chromosome aberrations in leukocytes of older survivors of the atomic bombings of Hiroshima and Nagasaki. *Lancet* 2: 802-5, 1967
3. ISHIHARA T, KUMATORI T: Cytogenetic studies on fishermen exposed to fallout radiation in 1954. *Jap J Genet* 44 (Suppl. 1): 242-51, 1969
4. SASAKI MS, MIYATA H: Biological dosimetry in atomic bomb survivors. *Nature* 220: 1189-93, 1968
5. 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
6. MILTON RC, SHOHOJI T: Tentative 1965 radiation dose estimation for atomic bomb survivors, Hiroshima and Nagasaki. ABCC TR 1-68
7. BEEBE GW, FUJISAWA H, YAMASAKI M: ABCC-JNIH Adult Health Study. Reference papers. 1. Selection of the sample. 2. Characteristics of the sample. ABCC TR 10-60
8. BEEBE GW, USAGAWA M: The major ABCC samples. ABCC TR 12-68
9. MOORHEAD PS, NOWELL PC, MELLMAN WJ, BATTIPS DM, HUNGERFORD DA: Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res* 20: 613-6, 1960
10. BLOOM AD, IIDA S: Two-day leukocyte cultures for human chromosome studies. *Jap J Hum Genet* 12: 38-42, 1967
11. SASAKI MS, NORMAN A: Proliferation of human lymphocytes in culture. *Nature* 210: 913-4, 1966
12. HEDDLE JA, EVANS HJ, SCOTT D: Sampling time and the complexity of the human leucocyte system. In *Human Radiation Cytogenetics*, ed by EVANS HJ, COURT BROWN WM, MCLEAN AS. Amsterdam, North-Holland Publishing Co., 1967. pp 6-19
13. SOFUNI T: Unpublished data.
14. 石原隆昭, 熊取敏之: 白血球染色体に及ぼす電離放射線の影響. *日本血液学会雑誌* 28: 291-307, 1965年 (ISHIHARA T, KUMATORI T: Chromosome aberrations in human leukocytes irradiated in vivo and in vitro. *Nippon Ketsueki Gakkai Zasshi-Acta Haemat Jap*)
15. ISHIHARA T, KUMATORI T: Chromosome studies on Japanese exposed to radiation resulting from nuclear bomb explosion. In *Human Radiation Cytogenetics*, ed by EVANS HJ, COURT BROWN WM, MCLEAN AS, Amsterdam, North-Holland Publishing Co., 1967. pp 146-66
16. BLOOM AD, NERIISHI S, KAMADA N, ISEKI T, KEEHN RJ: Cytogenetic investigation of survivors of the atomic bombing of Hiroshima and Nagasaki. *Lancet* 2: 672-4, 1966
17. JABLON S, FUJITA S, FUKUSHIMA K, ISHIMARU T, AUXIER JA: RBE of neutrons in Japanese survivors. ABCC TR 12-70
18. ISHIMARU T, HOSHINO T, ICHIMARU M, OKADA H, TOMIYASU T, TSUCHIMOTO T, YAMAMOTO T: Leukemia in atomic bomb survivors, Hiroshima and Nagasaki. 1 October 1950-30 September 1966. *Radiat Res* 45: 216-33, 1971
19. YUNIS JJ, ROLDAN L, YASMINEH WG, LEE JC: Staining of satellite DNA in metaphase chromosomes. *Nature* 231: 532-3, 1971
20. DUTRILLAUX B, LEJEUNE J: Sur une nouvelle technique d'analyse du caryotype humain. *CR Acad Sci* 272: 2638-40, 1971