

IN VITRO RADIOSENSITIVITY OF HUMAN FRESH  
T-LYMPHOCYTES BY COLONY FORMATION ASSAY USING  
PHA AND RECOMBINANT INTERLEUKIN-2

PHA 及びリコンビナント・インターロイキン 2 を用いたコロニー  
形成法によるヒト T リンパ球の試験管内放射線感受性

KAORI TATSUGAWA, M.D. 立川 薫

NORI NAKAMURA, Ph.D. 中村 典

MASAYUKI HAKODA, M.D. 箱田雅之

MITOSHI AKIYAMA, M.D. 秋山實利



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 thank Professor Shozo Sawada and staffs at the Department of Radiation Biology, Research Institute for Nuclear Medicine and Biology, Hiroshima University for gamma-ray irradiation and Dr. C.W. Edington, RERF Vice-Chairman, for his discussion and improvement of the manuscript. The recombinant IL-2 was kindly provided by Shionogi Pharmacy Co., Ltd.

ガンマ線照射に御協力いただいた広島大学原爆放射能医学研究所障害基礎部門の澤田昭三教授及びスタッフの方々に謝意を表する。また、原稿を検討及び手直していただいた放影研副理事長のC. W. Edington 博士にも謝意を表する。なおリコンビナントIL-2はシオノギ製薬から提供を受けた。

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

本報告書に基づく論文は下記の雑誌に掲載された。

*J Radiat Res (Tokyo)* 28:221-6, 1987

## 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。

## IN VITRO RADIOSENSITIVITY OF HUMAN FRESH T-LYMPHOCYTES BY COLONY FORMATION ASSAY USING PHA AND RECOMBINANT INTERLEUKIN-2

PHA 及びリコンビナント・インターロイキン 2 を用いたコロニー  
形成法によるヒトTリンパ球の試験管内放射線感受性

KAORI TATSUGAWA, M.D. (立川 薫); NORI NAKAMURA, Ph.D. (中村 典);  
MASAYUKI HAKODA, M.D. (箱田雅之); MITOSHI AKIYAMA, M.D. (秋山實利)

*Department of Radiobiology*

放射線生物学部

### SUMMARY

In vitro culture conditions for colony formation of human fresh peripheral T-cells using phytohemagglutinin (PHA) and recombinant Interleukin-2 are defined. Peripheral lymphocytes, from six individuals, were exposed to X or gamma rays in vitro, and dose-survival curves were obtained. The results showed typical sigmoid curves similar to those observed when other mammalian cells are exposed to radiation. The  $D_{10}$  (dose required to kill 90% of the cells) was found to be 3.0 to 3.5 Gy.

### INTRODUCTION

The variation of radiosensitivity among individuals has not been taken into account in the assessment of radiation risk to humans, mainly because the variation in normal populations is not clear and is regarded to be small.<sup>1</sup> Most of the studies on radiosensitivity of cells from patients who are genetically prone to cancer as well as normal people have been conducted using normal diploid skin fibroblasts. Such investigations are, however, limited because of the difficulty in obtaining skin samples from healthy people. Recently, with the discovery of T-cell growth factor (Interleukin-2, IL-2), it became possible to obtain clonal growth of peripheral T-lymphocytes with high cloning efficiency (CE). This colony formation method is superior to that used previously in which skin fibroblasts were used because of the ease in obtaining the cells. Here we report a method of T-cell colony formation in vitro

### 要 約

フィトヘムアグルチニン (PHA) 及びリコンビナント・インターロイキン 2 を用いたヒト末梢T細胞のコロニー形成のための試験管内培養条件を決定した。6名から得られた末梢リンパ球に試験管内でX線又はガンマ線を照射し、線量-生存率曲線を得た。その結果、ほかの哺乳類細胞に放射線を照射した場合と同様の典型的なシグモイド曲線を得た。 $D_{10}$  (90%の細胞を死滅させるのに要する線量) は3.0~3.5 Gyであることが判明した。

### 緒 言

ヒトに対する放射線リスクを評価する際に、現状では放射線感受性の個人差は考慮に入られていないのであるが、これは主として通常集団における放射線感受性の不均質性が明らかでなく、またそれは小さいと考えられているためである。<sup>1</sup> 健康者及び遺伝学的に癌にかかりやすい患者の細胞の放射線感受性に関する研究の大部分は、正常な二倍性皮膚線維芽細胞を用いて行われてきた。しかし、健康人から皮膚標本を得にくいという理由により、このような研究は多くはない。最近、T細胞増殖因子 (インターロイキン 2, IL-2) の発見によって、高いコロニー形成率 (CE) でもって末梢Tリンパ球のクローン増殖を行うことが可能になった。このコロニー形成法は、必要な細胞の入手しやすさという点で皮膚線維芽細胞を用いた従来のコロニー形成法よりも優れている。本報では、PHA 及びリコンビナント IL-2 を用いた



using PHA and recombinant IL-2 and the results of radiation dose-survival experiments using cells of six healthy individuals.

## MATERIALS AND METHODS

**Isolation of lymphocytes.** Three milliliters of blood was defibrinated with glass beads and mononuclear cells were separated by Ficoll-Hypaque density gradient centrifugation.<sup>2</sup> The cells were washed three times with Earle's balanced salt solution (EBSS) containing 2.5% fetal calf serum, 100 U/ml Penicillin, and 100  $\mu$ g/ml Streptomycin.

**Colony formation.** The culture medium was alpha-MEM supplemented with 4 mM HEPES, 2 mM L-glutamine, 100 U/ml Penicillin, 100  $\mu$ g/ml Streptomycin, 0.7  $\mu$ g/ml Phytohemagglutinin-protein (PHA-P, Difco), and 5 U/ml recombinant IL-2 (Shionogi Pharmacy Co., Ltd.). The mononuclear cells were suspended in EBSS at a concentration of  $1 \times 10^6$  cells/ml. Immediately after appropriate dilution with the culture medium, cells were irradiated with <sup>60</sup>Co gamma rays at the Research Institute for Nuclear Medicine and Biology, Hiroshima University, and 2 to 800 cells (depending on the dose) were seeded to each well of a 96-well microplate (flat bottom, Corning) with 0.10 ml of culture medium. One plate was used for each irradiation. In the case of X irradiation, 2 to 800 cells were distributed in a microwell plate prior to exposure. In both cases, PHA was added immediately after irradiation. Radiation exposure was delivered at a dose rate of 50 and 44 rad/min for <sup>60</sup>Co gamma rays and X rays (Shimadzu WSI-250S, operated at 220 kVp, 8 mA, with a 0.3 mm Cu and 0.5 mm Al filter), respectively. As a feeder layer, human B-cells, Raji (IL-2 independent), inactivated with 100 Gy of X rays, and human allogeneic lymphocytes, inactivated with 50 Gy of X rays, were added to each well with 0.10 ml of the medium in both gamma- and X-ray experiments. Cells were incubated at 37°C in a humidified CO<sub>2</sub> incubator (5% CO<sub>2</sub> plus 95% air). Half of the medium (0.1 ml per well) was replenished after one week, and the presence of colonies was determined after two weeks using an inverted microscope. The CE of nonirradiated cells was found to be around 10%. Under the experimental conditions of the present study, it has been found that more than 80% of the colonies thus obtained possessed T<sub>4</sub> antigen on the surface<sup>3</sup>; they are mainly helper/inducer T-cells, which are being sought under the present examination.

T細胞の試験管内コロニー形成法、及び健康な6名の対象者の細胞を用いた放射線線量-生存率実験の結果を報告する。

## 材料及び方法

**リンパ球の分離.** 血液3 mlをガラスビーズで脱フィブリンし、単核細胞をFicoll-Hypaque密度勾配遠心法で分離した。<sup>2</sup> 2.5%ウシ胎児血清, 100 U/ml penicillin, 100  $\mu$ g/ml streptomycinを含むEarle balanced salt solution (EBSS)で細胞を3回洗浄した。

**コロニー形成.** 培養液には4 mM HEPES, 2 mM L-glutamine, 100 U/ml penicillin, 100  $\mu$ g/ml streptomycin, 0.7  $\mu$ g/ml phytohemagglutinin-protein (PHA-P, Difco)及び5 U/ml リコンビナントIL-2 (シオノギ製薬)を添加したalpha-MEMを用いた。単核細胞を濃度 $1 \times 10^6$ 個/mlの割合でEBSSに浮遊させた。細胞は培養液で適当に希釈した直後、広島大学原爆放射能医学研究所で<sup>60</sup>Coガンマ線を照射し、線量に応じて2～800個を0.10 ml培養液を用いて96穴のmicroplate (平底, Corning)の各wellに播種した。各照射ごとに1 plate用いた。X線照射の場合は、照射に先立ち2～800個の細胞をmicrowell plateに播種した。いずれの場合も、照射後30分以内にPHAを添加した。<sup>60</sup>Coガンマ線は50 rad/分、X線(島津WSI-250S, 0.3 mm Cu及び0.5 mm Alフィルター付き220 kVp, 8 mA)は44 rad/分の割合で照射を行った。ガンマ線及びX線両照射実験のいずれにおいても、feeder細胞としてX線100 Gyで不活性化したヒトB細胞であるRaji細胞(IL-2非依存性)、及びX線50 Gyで不活性化した他人由来リンパ球を0.10 ml培養液とともに各wellに添加した。加湿CO<sub>2</sub>恒温器(5% CO<sub>2</sub> + 95% 空気)の中で37°Cで細胞を培養した。培養液の半分(well当たり0.1 ml)を1週間後に交換し、2週間後倒立顕微鏡を用いてコロニーの有無を確認した。照射されなかった細胞のコロニー形成率(CE)は約10%であった。本研究の実験条件下では、このようにして得られたコロニーの80%以上が細胞表面上にT<sub>4</sub>抗原をもっていることが判明している。<sup>3</sup> そのコロニーは大部分helper/inducer T細胞であり、今回の検査では主としてこれらの細胞について調査したことになる。

Determination of surviving fraction. To determine the surviving fraction (SF), CE was first obtained for each plate by the formula<sup>3,4</sup>:

$$CE = \frac{-\ln(\text{fraction of wells with no cell growth})}{\text{Average number of cells seeded per well}}$$

— ln (細胞増殖のない well の割合)  
well 当たり平均播種細胞数

SFs were obtained by dividing the CE at each dose by that of the same individuals' nonirradiated plate.

## RESULTS

Before conducting the radiation experiments, conditions of feeder cells were examined. Our previous investigations revealed that X ray-inactivated Raji cells ( $10^4$  cells/well) support clonal growth of fresh lymphocytes.<sup>3</sup> Thus, different numbers of X ray-inactivated allogeneic lymphocytes were plated with  $10^4$  Raji cells per well. It was found that the colony size was small with less than  $1 \times 10^4$  allogeneic lymphocytes per well, and it was sometimes quite difficult for the untrained eye to identify the presence of growing lymphocytes. With more than  $2 \times 10^4$  lymphocytes per well, colony size was greatly improved and CE also increased substantially (Figure 1). Therefore, in the following dose-survival study,  $1 \times 10^4$  Raji cells and  $2 \times 10^4$  allogeneic lymphocytes were seeded per well as feeder cells.

生存率の決定. 生存率 (SF) を決定するために以下の公式を用いてまず各 plate の CE を得た<sup>3,4</sup>:

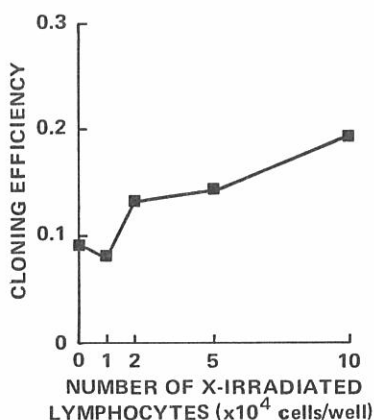
各線量における CE を同一対象者の照射されなかった plate の CE で除して SF を得た。

## 結 果

放射線実験を行う前に feeder 細胞の条件を検討した。以前の研究から、X線不活化 Raji 細胞 ( $10^4$  個/well) がリンパ球のクローン増殖を支持することが判明している。<sup>3</sup> したがって、well 当たり  $10^4$  個の Raji 細胞とともに異なる数の X線不活化同種リンパ球を培養した。Well 当たりの同種リンパ球が  $1 \times 10^4$  個以下の場合にはコロニーの大きさは小さく、ときとして不慣れな目では増殖中のリンパ球の有無を確認することは大変困難であることが判明した。Well 当たり  $2 \times 10^4$  個以上のリンパ球を加えた場合にはコロニーの大きさは随分大きくなり、CE もかなり増大した (図1)。したがって、以下の線量-生存率研究では feeder 細胞として well 当たり  $1 \times 10^4$  個の Raji 細胞と  $2 \times 10^4$  個の同種リンパ球を播種した。

FIGURE 1 THE EFFECT OF X RAY-INACTIVATED ALLOGENEIC LYMPHOCYTES ON THE CLONING EFFICIENCY OF FRESH LYMPHOCYTES

図1 X線不活化同種リンパ球がリンパ球コロニー形成率に及ぼす影響



*Fresh lymphocytes (2 cells/well on the average) were plated with  $1 \times 10^4$  Raji cells (treated with 100 Gy of X rays) and different number of allogeneic lymphocytes (50 Gy) per well. Each point represent average of duplicate plates (96 wells/plate).*

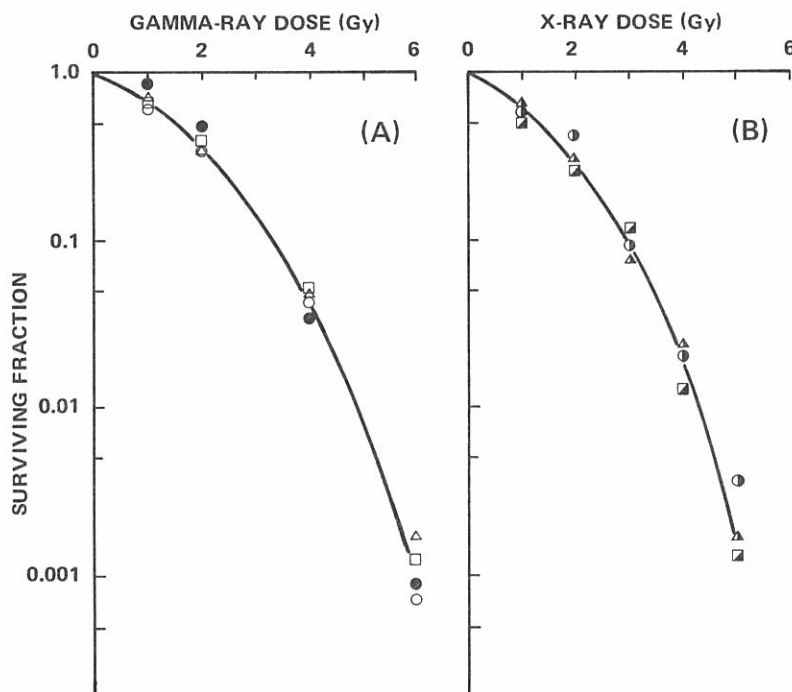
well 当たり  $1 \times 10^4$  個の Raji 細胞 (100 Gy X線処理) 及び異なる数の同種リンパ球 (50 Gy X線処理) を用いてリンパ球 (平均2個/well) を培養した。各点は2枚のプレート (96穴/plate) の平均を示す。

Cells from three laboratory volunteers were exposed to  $^{60}\text{Co}$  gamma rays and cells from another three volunteers were exposed to 220 kVp X rays to obtain dose-response curves (Figures 2A and 2B). Typical curvilinear responses were observed as reported for many other cultured mammalian cells. Cells from one individual were collected again one month later and reexamined; the result was similar to that in the earlier experiment (Figure 2A, open and closed circles), demonstrating that the present assay system is satisfactorily reproducible.

3名の有志から得た細胞を $^{60}\text{Co}$ ガンマ線照射し、別の3名の有志から得た細胞を220 kVp X線照射して線量-反応曲線を得た(図2A及び2B)。多くの哺乳類の培養細胞について報告されているように典型的な曲線反応が観察された。対象者一名については細胞を1か月後に再採取して再検査したところ、結果は初期の実験結果とほぼ同じであり(図2A, 白丸及び黒丸) 今回の測定法が十分再現性のあることが示された。

FIGURE 2 RADIATION RESPONSE OF THE LOSS OF COLONY FORMING ABILITY OF HUMAN PERIPHERAL T-LYMPHOCYTES

図2 ヒト末梢Tリンパ球のコロニー形成能力喪失の放射線反応



A. Results of  $^{60}\text{Co}$  gamma rays for three volunteers. B. Results of 220 kVp X rays for three different individuals. The open and closed circles in A represent the initial and repeated examinations of the same person. The lines were fitted by eye.

A. 有志3名の $^{60}\text{Co}$ ガンマ線照射の結果。B. 別の有志3名の220 kVp X線照射の結果。Aの白丸及び黒丸は同一対象者の1回目及び2回目の検査結果を示す。曲線の適合は目測で行った。

## DISCUSSION

As shown in Figure 2, the dose-survival curve of T-lymphocytes has a broad shoulder and the slope is continuously curving up to 6 Gy. Therefore no estimation was made for  $n$  and  $D_0$  which are usually obtained for multitarget models. If a linear extrapolation was made using data points above 3 Gy, the  $n$  value would be certainly larger than 10. This is in sharp contrast to the results obtained with normal human skin fibroblasts<sup>4,5</sup> and thyroid epithelial cells<sup>6</sup> in which the shoulder was found to be practically absent or quite small. It is not clear at present why such shoulders were observed in these experiments. One possible reason, however, may be related to the arrest of fresh lymphocytes in the  $G_0$  cell cycle. James et al<sup>7</sup> used normal human lymphocytes under long-term culture (more than 20 days) in dose-survival experiments and reported an almost linear dose-response curve (0-400 rad, average  $n=1.4$  for five individuals). Sanderson et al<sup>8</sup> examined dose responses of fresh, nonproliferating lymphocytes, and proliferating lymphocytes three days after PHA stimulation and reported that the growing cells were considerably more radiosensitive and the shoulder was greatly diminished. Wolff<sup>9</sup> also showed that lymphocytes at the  $G_1$  phase are twice as sensitive as cells at  $G_0$  in terms of radiation-induced dicentric/ring chromosome production. These results strongly suggest that  $G_0$  lymphocytes are capable of repairing sublethal damage more effectively than cycling cells. This is probably due to the fact that they have a longer time for repair to occur before the onset of DNA replication. On the other hand, in a plaque forming cell (PFC) assay with mouse spleen cells, Sado et al<sup>10</sup> reported that the survival curve for cells from B6 mice was almost exponential while cells from C3H mice had a broad shoulder ( $n$ =more than 10). These results may indicate that such a broad shoulder is not an unusual characteristic of normal cells following radiation exposure. Dose fractionation experiments will be used in the near future in an effort to clarify this hypothesis.

It has been known that peripheral lymphocytes are one of the most vulnerable cells to radiation injury. In rats, for example, after a total-body irradiation of 50 rad, the peripheral lymphocyte count decreased to less than 1/2 of the normal value within one day.<sup>11</sup> In human peripheral lymphocytes, exposure to 150 R in vitro resulted in about 90% of the cells being classified as morphologically nonviable

## 考 察

図2に示すとおり、Tリンパ球の線量-生存率曲線は肩が広く、6 Gyまで連続してカーブを描いている。したがって、通常多重標的モデルの場合得られる  $n$  及び  $D_0$  の推定は行わなかった。もし3 Gy以上のデータポイントを用いて直線外挿を行えば、 $n$  値が10以上になることは確かである。これはヒトの正常な皮膚線維芽細胞<sup>4,5</sup>や甲状腺細胞<sup>6</sup>では曲線の肩がほとんどないか、極めて小さいという結果と大きく異なっている。今回の実験でなぜそのような曲線の肩が観察されたのか現在のところ明らかでない。しかし、考えられる理由として、リンパ球が  $G_0$  細胞周期に停止していることとの関連が挙げられる。Jamesら<sup>7</sup>は、線量-生存率実験で長期培養(20日以上)のヒトの正常リンパ球を用い、線量-反応曲線(0-400 rad, 対象者5名の平均  $n$  値=1.4)がほぼ線形であることを報告した。Sandersonら<sup>8</sup>は、非増殖リンパ球及びPHA刺激後3日目の増殖リンパ球を調べた結果、増殖期の細胞の方が放射線感受性が一層高く、曲線の肩も減少していると報告している。Wolff<sup>9</sup>も、放射線誘発の二動原体/環状染色体産生に関しては  $G_1$  期のリンパ球の放射線感受性は  $G_0$  期のリンパ球の2倍であることを報告している。これらの結果は、 $G_0$  期のリンパ球は細胞周期を回っている細胞よりも亜致死損傷をよりよく修復できることを強く示唆している。それは、この時期のリンパ球はDNA複製を開始するまでに修復時間がより長いためと考えられる。一方、マウスの脾臓細胞を用いたブランク形成細胞(PFC)測定においてSadoら<sup>10</sup>は、B6マウスから得た細胞の生存曲線は指数曲線に極めて近いのに対して、C3Hマウスから得た細胞では曲線の肩が広い( $n=10$ 以上)ことを報告した。したがって、これらの結果は曲線の肩が大きいことは放射線照射された正常細胞の例外的な特性ではないことを示しているのかもしれない。この仮説を実証するために近い将来線量分割実験を行うことを考えている。

以前から末梢リンパ球は放射線障害を最も受けやすい細胞の一つであることが知られている。例えばラットでは、50 radの全身照射後末梢リンパ球数は一日のうちに正常値の1/2以下に減少する。<sup>11</sup> ヒトの末梢リンパ球では、試験管内で150 R照射すると細胞の約90%が6日間培養(PHA刺激なし)後形態学的

after six days' culture (without PHA stimulation).<sup>12</sup> It has also been shown that the ultrasensitivity is greatly diminished if the cells were stimulated by mitogens in vitro either before or after radiation exposure.<sup>12,13</sup> In the present study, cells were irradiated at the  $G_0$  stage, followed by PHA stimulation, and the results show that the  $D_{10}$  lies between 3 and 3.5 Gy which is in reasonable agreement with results obtained with other types of human cells; that is, human skin fibroblasts (3-4 Gy,<sup>4</sup> 3.5-4.5 Gy<sup>5</sup>), mammary epithelial cells (>4 Gy<sup>14</sup>) or thyroid epithelial cells (2-3.5 Gy<sup>6</sup>). The molecular events relating lymphocyte blastogenesis to reduction of lymphocyte radiosensitivity are not understood as yet. In this regard, it is interesting to mention that resting oocytes of juvenile mice have been known to be quite radiosensitive ( $D_{10} = 20$  rad) while growing oocytes are not.<sup>15</sup> Hence, in both oocytes and lymphocytes, cells at the resting stage seem to be programmed to die after exposure to small doses of radiation, whereas physiological alteration (i.e., maturation of resting oocytes and blastogenesis of small lymphocytes) may release the cells from the programmed interphase cell death leading to a common mitotic death of which the target molecule is mainly DNA (chromosomes). Alternatively, it has been speculated that the greatly increased DNA polymerase and ligase activities accompanying lymphocyte blastogenesis may render the cells to repair DNA damage more effectively.<sup>13</sup>

The present assay provides the means to survey human radiosensitivity at the cellular level for a large number of people and such investigations are currently under progress.

に致死と認められた。<sup>12</sup> また放射線照射の前後に試験管内で細胞をマイトジェンで刺激すれば、この超感受性が大幅に低下することも証明されている。<sup>12, 13</sup> 本研究では、 $G_0$  期で細胞を照射した後 PHA 刺激を行ったところ、 $D_{10}$  は 3 ~ 3.5 Gy であり、ヒトのその他の細胞、すなわちヒトの皮膚線維芽細胞 (3 ~ 4 Gy,<sup>4</sup> 3.5 ~ 4.5 Gy<sup>5</sup>)、乳腺上皮細胞 (>4 Gy<sup>14</sup>) 又は甲状腺上皮細胞 (2 ~ 3.5 Gy<sup>6</sup>) を用いて得た結果とかなり一致している。リンパ球の幼若化がリンパ球の放射線感受性の減少をもたらす分子レベルでの原因はまだ明らかでない。この点に関して興味深いことは、若いマウスの休止期の卵母細胞は放射線感受性が非常に高い ( $D_{10} = 20$  rad) が、増殖期の卵母細胞はそうではないことが知られていることである。<sup>15</sup> したがって、卵母細胞及びリンパ球のいずれも、休止期の細胞は少量の放射線照射後死滅するようプログラムされているように思われるが、生理学的変化 (休止期卵母細胞の成熟及び小リンパ球の幼若化) によって細胞はプログラムされた間期死をまぬかれて、主として DNA (染色体) が標的となる一般的な分裂死に到ようになるのかもしれない。他方、リンパ球の幼若化に伴い DNA ポリメラーゼ及びリガーゼの活性が大きく増大することが知られており、そのために細胞は DNA 損傷修復をより効果的に行うようになるかもしれない。<sup>13</sup>

本測定法によって多くの人を対象にしたヒト放射性感受性を細胞レベルで調査することができ、このような調査が現在進行中である。



## REFERENCES

## 参考文献

1. Committee on the Biological Effects of Ionizing Radiations: The effect on populations of exposure to low levels of ionizing radiation: 1980. Washington D.C., National Academy Press, 1980
2. BEAN MA, AKIYAMA M, KODERA Y, DUPONT B, HANSEN JA: Human blood T-lymphocytes that suppress the mixed leukocyte culture reactivity of lymphocyte from HLA-B14-bearing individuals. *J Immunol* 123:1610-4, 1979
3. HAKODA M, AKIYAMA M, KYOIZUMI S, KOBUE K, AWA AA: Measurement of in vivo HGPRT-deficient mutant cell frequency using a modified method for cloning human peripheral blood T-lymphocytes. *Mutat Res*, 197:161-9, 1988 (RERF TR 14-86)
4. ARLETT CF, HARCOURT SA: Survey of radiosensitivity in a variety of human cell strains. *Cancer Res* 40:926-32, 1980
5. WEICHELBAUM RR, NOVE J, LITTLE JB: X-ray sensitivity of fifty-three human diploid fibroblast cell strains from patients with characterized genetic disorders. *Cancer Res* 40:920-25, 1980
6. MILLER RC, HIRAOKA T, KOPECKY KJ, NAKAMURA N, JONES MP, ITO T, CLIFTON KH: Sensitivity to radiation of human normal, hyperthyroid and neoplastic thyroid epithelial cells in primary culture. *Radiat Res* 111:81-91, 1987 (RERF TR 2-86)
7. JAMES SE, ARLETT CF, GREEN MHL, BRIDGES BA: Radiosensitivity of human T-lymphocytes proliferating in long-term culture. *Int J Radiat Biol* 44:417-22, 1983
8. SANDERSON BJS, DEMPSY JL, MORLEY AA: Mutations in human lymphocytes: Effects of X- and UV-irradiation. *Mutat Res* 140:223-27, 1984
9. WOLFF S: The repair of X-ray-induced chromosome aberrations in stimulated and unstimulated human lymphocytes. *Mutat Res* 15:435-44, 1972
10. SADO T, KAMISAKU H, KUBO E: Strain difference in the radiosensitivity of immunocompetent cells and its influence on the residual host-vs-graft reaction in lethally irradiated mice grafted with semiallogeneic bone marrow. *J Immunol* 134:704-10, 1985
11. SUTER GM: Response of hematopoietic system to X-rays. USAEC DOC. MDDC-824. USAEC, Oak Ridge, Tennessee, 1947 (This article is cited in Ref. 13)
12. SCHREK R, STEFANI S: Radioresistance of phytohemagglutinin-treated normal and leukemic lymphocytes. *J Natl Cancer Inst* 32:507-21, 1964
13. ANDERSON RE, WARNER NL: Ionizing radiation and immune response. *Adv Immunol* 24:215-335, 1976
14. GOULD MN: Radiation-induced specific locus mutation in human mammary epithelial cells. *Int J Radiat Biol* 47:387-91, 1985
15. DOBSON RL, KWAN TC: The tritium RBE at low-level exposure - variation with dose, dose-rate and exposure duration. *Curr Top Radiat Quart* 12:44-62, 1977