



Title	放射線照射下におけるDNA損傷生成率のシミュレーション研究
Author(s)	谷内, 淑恵
Citation	北海道大学. 博士(保健科学) 甲第15341号
Issue Date	2023-03-23
DOI	10.14943/doctoral.k15341
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/89400
Type	theses (doctoral)
File Information	Yoshie_Yachi.pdf



[Instructions for use](#)

学位論文

放射線照射下における DNA 損傷生成率のシミュレーション研究

谷内 淑恵

北海道大学大学院保健科学院
保健科学専攻保健科学コース

2022年度

-概要-

現代医療において放射線の利用は診断や治療に欠かすことができない。しかし、放射線を生体へ照射した際の影響には、病変の検出や評価、がん細胞の殺傷というメリットだけでなく、正常組織の損傷や発がん等というリスクもある。したがって、これらの放射線生体影響を正確に評価することが重要である。

電離放射線が生体へ入射した際、生体組織との相互作用により二次電子線が発生する。二次電子線は生体中を進みながら相互作用（電離、励起等）を引き起こし、エネルギーを付与する。このとき、DNA 構造を直接損傷する、もしくは生体組織へのエネルギー付与により発生したラジカルが DNA 構造を損傷することにより、DNA 損傷が誘発される。DNA 損傷には様々な種類があるが、DNA 二本鎖切断（DNA double-strand breaks, DSBs）は DNA 損傷の中でも染色体異常や細胞死を誘発する損傷であり、その生成率は電離放射線の生物学的影響を評価する上で重要な指標である。さらに、10 塩基対以内に追加の鎖切断を含む複雑な DSB（complex DSB）は、単独の DSB（simple DSB）よりもさらに複雑な損傷であり、修復が困難である可能性が指摘されている。したがって、complex DSB 生成率の定量化は、生物学的影響のより正確な評価に必要である。

放射線照射後の物理学的過程を評価するために、モンテカルロ（Monte Carlo, MC）シミュレーションを用いた電子線飛跡構造解析コードの開発が進められている。MC コードでは、放射線の飛行距離・散乱角度・物質との衝突の種類を、乱数を用いて決定することにより、飛跡構造を模擬することが可能である。現在までに複数のコードが開発されており、その種類として in-house コードである WLTrack や汎用の粒子線飛跡解析コード（Particle and Heavy Ion Transport code System, PHITS）が挙げられる。

現在まで、放射線防護や放射線治療における生物学的影響に関する様々な研究が行われてきたが、その評価（とくに物理学的過程から生物学的過程を通じた評価）は依然として改善の余地がある。そこで本研究では2つのMCコードを使用し電子線飛跡解析を行うことにより、物理学的過程に基づいて初期の生物学的過程（とくに複雑なDSB生成率）を解析することを目的とした。そして、この目的に応じた基礎研究「電子線飛跡構造解析に基づく複雑なDNA損傷生成の実験的解析」および応用研究「MRI融合放射線治療における電子線飛跡構造およびDNA損傷生成率に対する磁場の影響評価」に取り組んだ。

細胞核内 DSB サイトの一般的な実験的検出方法に、ヒストンタンパク質 H2AX（H2A histone family member X）のリン酸化を蛍光標識にて検出する γ -H2AX focus 形成法が挙げられる。DSB の両端から 10 塩基対以内の範囲に追加の鎖切断が存在する損傷（complex DSB）は、 γ -H2AX focus 形成法を使用して foci サイズを解析することで検出可能であると考えられている。しかし、foci サイズと DSB の複雑さとの関係は明らかにされていない。本研究では、2つの電子線輸送モンテカルロコード（WLTrack および PHITS）を組み合わせることにより、 γ -H2AX foci 顕微鏡画像から光子線照射により誘発される complex DSB の定量化を可能とする解析手法を開発した。まず、非弾性散乱イベント（電離および励起）が DNA 鎖切断を誘発する可能性があると仮定し、WLTrack を使用し液相水中内の電子線飛跡に沿って cube（ $5.03 \times 5.03 \times 5.03 \text{ nm}^3$ ）を配置し、cube 内のイベント数を計数した。次に、 γ -H2AX focus 形成法によって測定された foci サイズと WLTrack により

得られた cube 内イベント数との関係性を評価した。さらに、イベント数と foci サイズの関係性を利用し、foci サイズから様々なスペクトルの X 線照射後に誘発される DSB の複雑さを解析し、PHITS に実装されている十分に検証された DNA 損傷推定モデルによって推定された DSB の複雑さの解析結果と比較した。その結果、cube 内のイベント数は foci サイズに比例し、イベント数が DSB の複雑さを反映していることが示唆された。本研究にて開発された解析手法は、さまざまな X 線スペクトル（診断用 kVp X 線および治療用 MV X 線）で測定された foci データに適用可能であることが明らかとなった。この解析手法は、 γ -H2AX focus 形成法による光子照射後の初期の生物学的影響の正確な理解への寄与が期待される。

また、近年、磁気共鳴誘導放射線治療法 (Magnetic resonance-guided radiotherapy, MRgRT) が開発され、様々な臨床施設で外部放射線療法用に導入されている。MRgRT にて照射された荷電粒子は、ローレンツ力の作用を受け線量分布が変化することが報告されている。しかし、ローレンツ力が低エネルギー電子線の飛跡構造と初期の DNA 損傷生成率に及ぼす影響は明らかにされていない。本研究では、PHITS に搭載された、1 meV を下限とする低エネルギー電子線を模擬することが可能な飛跡解析モード (*etsmode*) を使用して、磁界下における電子線飛跡構造と生物学的効果を推定した。液相水中における 300 keV 以上の電子線エネルギーによる巨視的な線量分布は、垂直磁場および平行磁場の両方で変化し、ローレンツ力が腫瘍内の線量計算に影響を及ぼすことを示した。一方、原子間相互作用の空間分布に基づく DNA 損傷生成率の推定では、DSB の生成率が磁束密度に依存しなかった。これは、DSB の生成が主に数十 eV 以下の二次電子線に起因し、そのエネルギー付与の空間分布はローレンツ力にはほぼ影響されないことが要因である。本研究より、線量分布へのローレンツ力の影響のみを考慮して MRgRT の治療計画を立案することが可能であることを示唆している。

本研究では、電子線飛跡解析シミュレーションを用いて DSB 生成率を推定することにより、電子線および光子線照射時の生物学的影響を評価した。その結果、光子線照射時の複雑な DSB 生成率を解析可能とする新たな実験的手法の開発に成功した。また、電子線飛跡構造への磁場の影響を推定し、MRgRT における電子線照射での生物学的影響としてローレンツ力が重要であることを示した。これらの結果から、放射線照射後の物理学的過程（電離・励起の空間分布）のシミュレーション解析から放射線治療に資する生物学的過程の初期応答（DNA 損傷生成率）のより高精度な推定を可能にした。

-ABSTRACT-

In clinical, ionizing radiations are commonly used for diagnostic imaging and radiation therapy. However, radiation, a double-edged sword, has not only the therapeutic effect of killing cancer cells, but the risk of adverse events such as damage to normal tissues and carcinogenesis. Thus, it is required that these radiation effects are evaluated accurately when irradiating the biological tissues with radiation.

When ionizing radiation is irradiated in biological tissues, secondary electrons are generated due to interactions with biological tissues. The secondary electrons induce inelastic interaction (ionization and excitation, etc.), damaging the DNA by energy deposition. This damage is caused by direct effect due to irradiation or indirect effect due to radicals generated by ionized biological tissue. Several types of DNA damage exist, and one particularly important form is DNA double-strand breaks (DSBs), which can induce toxic lesions (e.g., chromosomal aberrations and cell death). The yield of DSBs is an important parameter for evaluating the biological effects of ionizing radiation. Furthermore, complex DSBs, which are DSB sites including additional strand breaks within 10 bp, are more complex lesions than isolated DSBs and may be difficult to repair. Therefore, it is necessary to quantify the yield of complex DSBs to make understanding accurately of the biological effects.

To evaluate the physical process of radiation, several electron track-structure analysis Monte Carlo (MC) simulation codes, including an in-house code, WLTrack, and a general-

purpose MC track structure simulation code, Particle and Heavy Ion Transport code System (PHITS) were developed. In the MC code, it is possible to simulate the track structure by determining the flight distance, scattering angle, and type of collision with the material using random numbers.

To date, previous studies have been implemented on the biological effects related to radiological protection and radiotherapy, but their evaluation (particularly through physical and biological processes) has been incomplete. In this thesis, to analyze early biological processes (especially complex DSB induction) based on physical processes by performing electron track-structure analysis using two MC codes. For this purpose, we worked on basic study "An analysis method of complex DNA damage induction based on electron track structure analysis" and applied study "Evaluating the effect of magnetic field for DNA damage induction by electron track structure analysis".

A general experimental method for detecting intranuclear DSB sites is the phosphorylated histone H2A histone family member X (γ -H2AX) focus formation assay. The foci sizes measured by the γ -H2AX focus formation assay are believed to detect complex DSBs, but the relationship between foci size and DSB complexity is uncertain. In this study, the γ -H2AX focus formation assay coupled with the electron track structure MC codes (WLTrack and PHITS) was developed for the quantification of complex DSBs induced by photon irradiation. First, we assumed that inelastic events (i.e., ionization and excitation) could induce DNA strand

breaks, and we set the cube ($5.03 \times 5.03 \times 5.03 \text{ nm}^3$) along the electron tracks in liquid water and counted the number of events per cube using WLTrack. Second, we evaluated the relationship between the foci size measured by the γ -H2AX focus formation assay and the number of events per cube. Third, using the relationship between the number of events and the foci size, we analyzed the DSB complexity induced after various X-ray spectra irradiations and compared it with the results estimated by a well-validated DNA damage estimation model implemented in PHITS. The number of events per cube were proportional to the foci size, suggesting that the number of events reflected the DSB complexity. We found that the analytical method developed in this study is applicable to foci data measured in various X-ray spectra (diagnostic kVp X-rays and therapeutic MV X-rays). This analytical method can contribute to understanding the early biological effects of photon irradiation through the γ -H2AX focus formation assay.

Meanwhile, magnetic resonance-guided radiotherapy (MRgRT) has recently been developed and introduced for external radiotherapy in several clinical facilities. It has been reported that the charged particles irradiated in MRgRT are affected by the Lorentz force and the dose distribution is modified. However, the effects of the Lorentz force on the low-energy electron track structure and initial DNA damage induction remain uncertain. In this study, we used the electron track-structure mode (*etsmode*) in PHITS, which is capable of simulating low-energy electrons down to 1 meV, to analyze the electron track structure and biological effects

in the static magnetic field (SMF). The electron dose distributions, which are macroscopic spatial distributions of deposit energy, with electron energies of approximately 300 keV in liquid water are modified against the incident direction in both perpendicular- and parallel-direction SMFs. However, we found that the yield of DSBs estimated by the spatial distribution of inelastic events was independent of the magnetic flux density of the SMF. This result is occurred because DSBs are generated mainly by secondary electrons with energies under several tens of eV, and the spatial distribution of deposit energy for these electrons is almost unaffected by the Lorentz force. This study suggests that treatment planning for MRgRT can be made with consideration of only the effect of the Lorentz force on dose distribution.

In these studies, we evaluated the biological effects of photon and electron irradiation based on the yield of DSBs estimated by electron track-structure MC codes. As these results, we successfully developed a new experimental method which enables estimating the yield of complex DSBs by photon irradiation. We also estimated the effect of the magnetic field on the electron track structure and evaluated the biological effects of electron irradiation in the case of MRgRT. From these studies, we succeeded in estimating the initial response (i.e., the yield of DNA damage) of the biological process contributing to radiation therapy with high accuracy by simulation analysis of the physical processes (i.e., the spatial distribution of ionization and excitation) after irradiation.

目次

第 1 章 緒言	1
1.1. 医療に用いられる放射線	1
1.2. 放射線物理の基礎	2
1.2.1 電離放射線の種類と衝突反応	2
1.2.1.1 光子線	3
1.2.1.2 電子線	4
1.2.2 放射線の線質評価に用いられる諸量	5
1.3. 光子線照射後に誘発される生物学的影響の概要	9
1.4. 放射線照射により誘発される DNA 損傷	14
1.4.1 DNA 損傷の主な種類	14
1.4.2 DNA 二本鎖切断の修復過程	18
1.5. モンテカルロシミュレーションによる電子線輸送	23
1.5.1 モンテカルロシミュレーションの概要	23
1.5.2 第一原理計算による電子線輸送の概要	24
1.6. 本論文における研究目的	29
参考文献	31
第 2 章 電子線飛跡構造解析に基づく複雑な DNA 損傷生成の実験的解析	33
2.1. 緒言	33
2.2. 方法	35
2.2.1. 培養細胞および培養方法	35
2.2.2. 細胞への照射体系	35
2.2.3. DNA 二本鎖切断の検出と解析	36
2.2.4. 細胞核内における γ -H2AX foci の二点間距離計算	37
2.2.5. X 線照射後に生成される複雑な DNA 損傷生成率の解析	39
2.3. 結果と考察	42
2.3.1. γ -H2AX foci の解析による DNA 二本鎖切断の空間分布	42
2.3.2. γ -H2AX foci 面積と局所的な電離・励起数との関係性	46
2.3.3. X 線照射時の複雑な DNA 損傷生成率	48
2.4. 小括	51
参考文献	52

第3章 MRI 融合放射線治療における電子線飛跡構造および	
DNA 損傷生成率に対する磁場の影響評価	54
3.1. 緒言	54
3.2. 方法	55
3.2.1. 磁界下における電子線飛跡解析 Monte Carlo コードの設定	55
3.2.2. 電子線飛跡構造解析による物理量計算	56
3.2.3. DNA 損傷生成率の推定モデル	58
3.3. 結果と考察	59
3.3.1. 磁界下における電子線の線量分布	59
3.3.2. 磁界下における電子線飛程	64
3.3.3. 真空中における磁界下での電子線挙動	66
3.3.4. 磁場による電子線照射時の DNA 損傷生成率への影響	68
3.4. 小括	72
参考文献	73
第4章 総括および今後の展望	75
4.1. 総括	75
4.2. 今後の展望	76
謝辞	79
業績リスト	80
付録	85

本文中の略語解説

alt-NHEJ	代替的非相同組換え (alternative non-homologous end-joining)
BD	塩基損傷 (base pair)
DEA	解離性電子付着 (dissociative electron attachment)
DMCC	dynamic Monte Carlo code
DSB	DNA 二本鎖切断 (DNA double-strand break)
EGS	Electron Gamma Shower
ERE	electron return effect
<i>etsmode</i>	電子線飛跡解析モード (electron track structure mode)
H2AX	H2A histone family member X
HR	相同組換え (homologous recombination)
ICRP	国際放射線防護委員会 (International Commission on Radiological Protection)
ICRU	国際放射線単位測定委員会 (International Commission on Radiation Units)
LET	線エネルギー付与 (Linear Energy Transfer in keV/μm)
MC	モンテカルロコード (Monte Carlo code)
MMEJ	マイクロホモロジー媒介末端結合 (microhomology-mediated end-joining)
NHEJ	非相同組換え (non-homologous end-joining)
MRgRT	磁気共鳴誘導放射線治療法 (Magnetic resonance-guided radiotherapy)
PHITS	粒子線飛跡解析コード (Particle and Heavy Ion Transport code System)
RBE	生物学的効果比 (Relative biological effectiveness)
SSB	DNA 一本鎖切断 (DNA single-strand break)
TEPC	組織等価比例計数管 (Tissue equivalent proportional counter)

第1章

緒言

1.1. 医療に用いられる放射線

現在医療では画像診断やがん等への治療において放射線が用いられている。例えば、画像診断で用いられる X 線発生装置には、乳房 X 線撮影（マンモグラフィ (mammography)）を含む一般撮影装置やコンピュータ断層撮影 (computed tomography, CT)、放射線治療に用いられる直線加速器（リニアック (Linac)）等が挙げられる。これらの装置から発生する X 線エネルギーは、診断用装置と治療用装置とで大別できる。診断用 X 線照射装置では、マンモグラフィが 28 kVp X 線と最も低い[1]。CT は 120 kVp X 線が主として用いられるが、最近では dual-energy CT の普及により 80 kVp X 線や 140 kVp X 線といったエネルギーも使用されている[2]。一般撮影用装置が両者の中間程度のエネルギーである。一方、リニアックでは、4-25 MV の X 線を照射する[3]。

診断用装置による照射の場合、得られるベネフィットとして疾患の発見および克服が挙げられる。また、治療用装置による照射の場合、ベネフィットとしてがん細胞の死滅といった治療効果が挙げられる。一方、人体への放射線照射のリスクとして正常組織へのダメージや発がんといった恐れがある。したがって、医療において人体に放射線を照射する際には、これらのベネフィットとリスクのバランスを正確に評価することが求められる。このような考え方は、国際放射線防護委員会（International Commission on Radiological Protection, ICRP）の 2007 年勧告において、放射線防護の原則の一つ「正当化」としてまとめられている[4]。

1.2. 放射線物理の基礎

1.2.1 電離放射線の種類と衝突反応

放射線が物質中を通過するとき、原子や分子を直接的または間接的に電離することから、電離放射線と呼ばれている[5]。電離放射線には、荷電粒子線および非荷電粒子線の2種類がある。前者は、自身の電荷によって直接的に物質の原子および分子を電離することから、直接電離放射線と呼ばれる[5]。後者は電荷を持たないが、物質との相互作用により二次電子を生成し、その二次電子が物質を電離するため間接電離放射線と呼ばれる[5]。図 1-1 に、主な電離放射線の分類を示す。

以下、本研究で扱う電離放射線である光子線および電子線の特性を述べる。

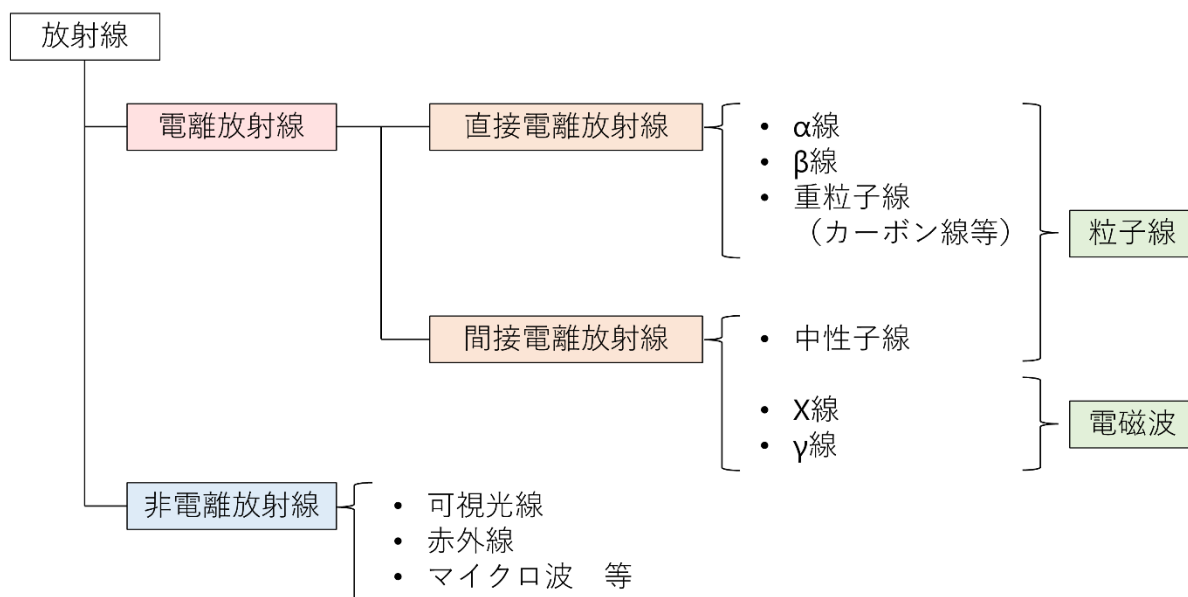


図 1-1 放射線の分類

1.2.1.1 光子線

非荷電粒子線に含まれる X 線および γ 線は光子線の 1 種である。この 2 種類の光子線は発生方法により分類される。 γ 線は放射線同位元素の壊変により、エネルギーの余剰分として放出される。よって、 γ 線のエネルギーは、発生源となる放射線同位元素により異なる。一方、X 線は、電子が物質へ入射した際、物質の原子核付近で減速されるとそのエネルギーの損失分として放出される。X 線のエネルギーは、入射電子のエネルギーを最大値とした連続値をとり、これを制動 X 線 (bremsstrahlung) と呼ぶ (図 1-2 (A))。また、入射電子によりターゲット原子の内殻電子が放出されると、その空席に外殻電子が遷移する際に差分のエネルギーを X 線として放出する。これを特性 X 線と呼び、単一のエネルギーを持つ (図 1-2 (A))。特性 X 線の競合反応として、ターゲット原子の電子を放出することにより安定的なエネルギーへ遷移する現象があり、このときに放出される電子のことをオージェ電子 (Auger electron) と呼ぶ[6]。

光子線と物質の相互作用には、物質へエネルギーを付与しない反応である弾性散乱 (トムソン散乱、レイリー散乱) と、エネルギーを付与する反応である非弾性散乱 (光電効果、コンプトン散乱、電子対生成) がある。各反応の発生確率 (断面積) は、光子線のエネルギーや物質の原子番号に依存する (図 1-2 (B)) [6]。

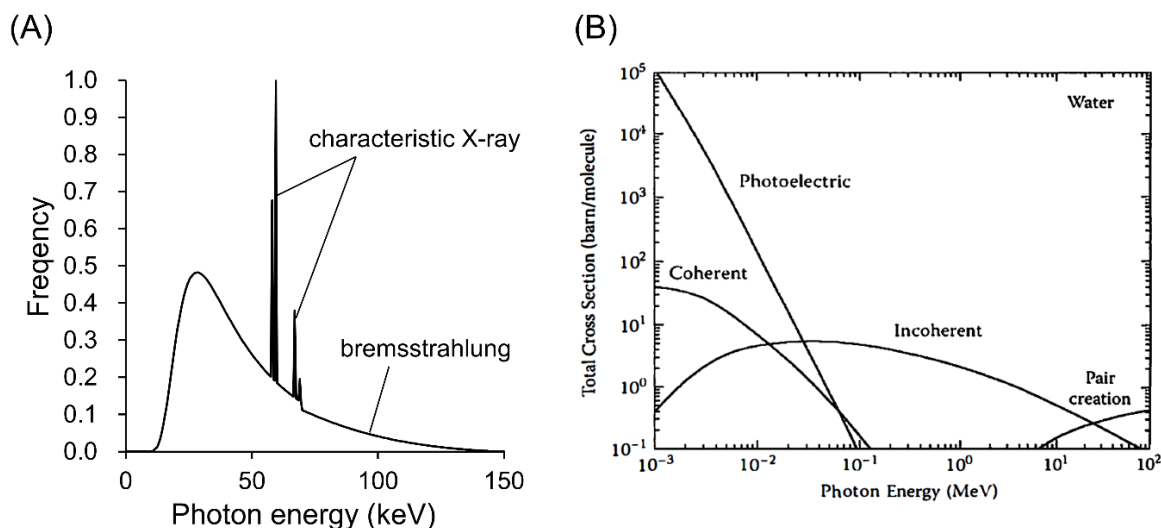


図 1-2 150 kVp X 線 (付加フィルタ 1.0 mmAl) のスペクトル (A) および光子線と水の衝突反応の断面積 (B) [6]

1.2.1.2 電子線

電子線が物質へ入射すると、物質を構成する原子核との衝突によりエネルギーを失いながら進む。主な衝突反応は、弾性散乱 (elastic scattering)、電離 (ionization)、励起 (electron excitation) である。各衝突反応の発生確率は電子衝突断面積と呼ばれ、衝突時の電子線エネルギーに依存する。図 1-3 に気相水中における電子衝突断面積[7]を示す。電子線は主に弾性散乱によって進行方向が変化する。電子線は、重イオンと比較して軽く、偏向されやすい (1.1.3 図 1-5 参照)。

X線照射後に生成される二次電子線と生体組織の衝突反応を模擬するため、近年では液相水中での電子衝突断面積の詳細な解明が進められている[8,9]。特に、低エネルギー領域で優位な衝突反応 (振動励起 (vibrational excitation)、回転励起 (rotational excitation)、解離性電子付着 (dissociative electron attachment)、フォノン励起 (phonon excitation)) の評価が行われ、低エネルギー電子線の飛跡構造解析に使用されている[8]。

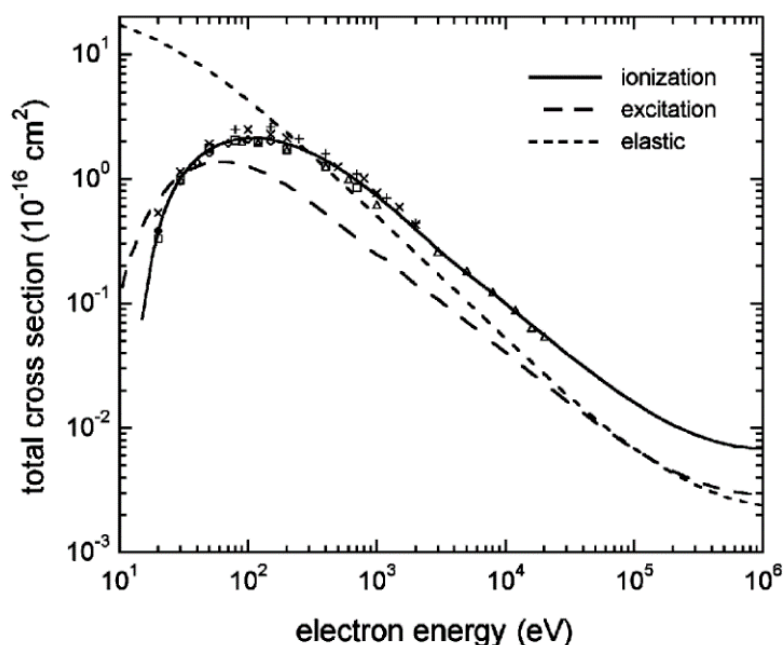


図 1-3 弾性散乱および電離、励起の電子衝突断面積[7]

1.2.2 放射線の線質評価に用いられる諸量

放射線計測において最も基本的な量は、吸収線量 D である。これは、単位質量当たりに吸収されるエネルギーを指し、(1-1)式で与えられる。

$$D = \frac{d\varepsilon}{dm} \quad (1-1)$$

ここで、 m および ε はそれぞれ物質の質量および吸収エネルギーである。吸収線量の単位である Gy は Jkg^{-1} と等価である[10]。しかし、放射線の生体影響は、その種類とエネルギーにも依存することが明らかとなっており、線質を表す係数を吸収線量に乗じることにより反映される[10]。このとき使用する係数のことを、放射線加重係数(w_R)と呼ぶ。 w_R の値は、ICRP Publication 103 [4]にて表 1-1 および(1-2)式の通り定められている。

表 1-1 放射線加重係数の勧告値[4]

放射線の種類とエネルギーの範囲	放射線加重係数 w_R
光子、すべてのエネルギー	1
電子およびミュー粒子、すべてのエネルギー	1
陽子と荷電パイ中間子	2
アルファ粒子、核分裂片、重イオン	20
中性子	中性子エネルギーの連続関数 (図 1-4 と(1-2)式参照)

$$w_R = \begin{cases} 2.5 + 18.2e^{-[\ln(E_n)]^2/6}, & E_n < 1 \text{ MeV} \\ 5.0 + 17.0e^{-[\ln(2E_n)]^2/6}, & 1 \text{ MeV} \leq E_n \leq 50 \text{ MeV} \\ 2.5 + 3.25e^{-[\ln(0.04E_n)]^2/6}, & E_n > 50 \text{ MeV} \end{cases} \quad (1-2)$$

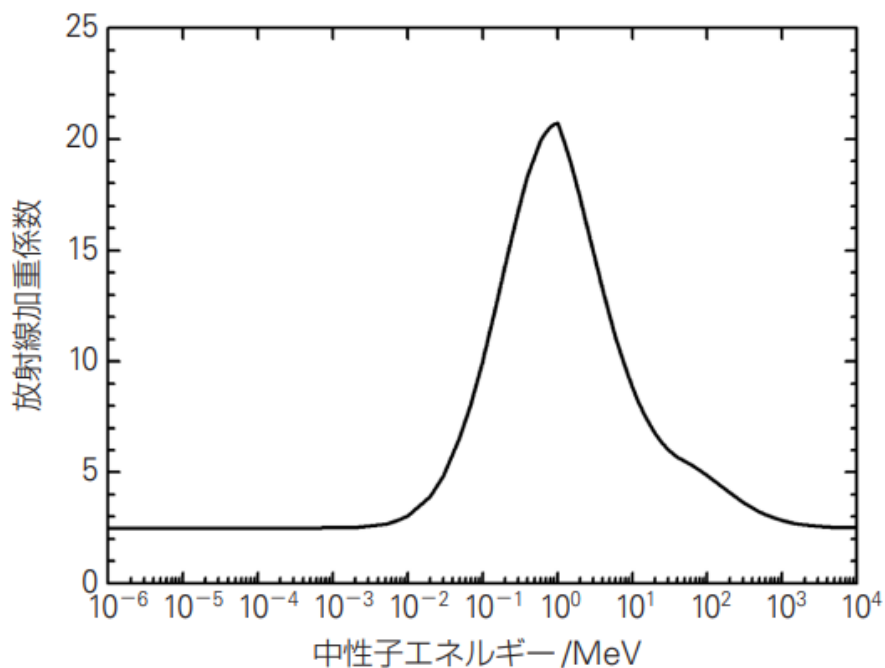


図 1-4 中性子に対する放射線加重係数 w_R と中性子エネルギーの関係[4]

w_R 値の決定には、線エネルギー付与 (Linear Energy Transfer, LET) が用いられる。これは、電離放射線の飛跡上に沿って、単位長さ当たり付与されるエネルギーを指し、(1-3)式で表される。

$$\text{LET} = \frac{dE}{dl} \quad (1-3)$$

ここで、 dE は荷電粒子が距離 dl を通過する際に失ったエネルギーである。低 LET 放射線には電子線や光子線、高 LET 放射線には α 線や重イオン線 (炭素イオン線等) が挙げられる。図 1-5 に、高 LET 放射線および低 LET 放射線飛跡の概略図を示す。 α 線や重イオン線は質量が大きく、1 回の衝突反応で遷移するエネルギーが微量であるため、直線的に進む[11]。一方、電子線や陽電子線は質量が小さく偏向されやすい[12]。

さらに、近年では ICRU Report 36[13]に示される microdosimetry の物理量に基づく線質評価が推奨されている。microdosimetry とは、吸収線量のような巨視的なエネルギー付与だけでなく、エネルギー付与の空間分布に着目することにより、生体組織への影響を解明することを目的とした理論である[13]。microdosimetry で使用される主要な量は、付与エネルギーと、それに関する確率量および期待値である。エネルギー付与の空間分布を解析するために、微視的領域 (site) に着目する。site 内の線エネルギー y は、(1-4)式で示される。

$$y = \frac{\epsilon}{\bar{l}} \quad (1-4)$$

ここで、 ϵ は site 内に付与されるエネルギー、 \bar{l} は site の平均弦長である。線エネルギー y は LET と同一の単位 (keV/ μm) で表される。線エネルギー y とその確率密度分布 $f(y)$ を用いて、(1-5)式により y の平均値を示す。

$$y_F = \int_0^{\infty} y f(y) dy \quad (1-5)$$

y_F は頻度平均線エネルギーと呼ばれる。さらに、(1-6)式により表される線量確率密度分布 $d(y)$ を用いて、線量平均線エネルギー y_D を(1-7)式に示す。

$$d(y) = \frac{y}{y_F} f(y) \quad (1-6)$$

$$y_D = \int_0^{\infty} y d(y) dy \quad (1-7)$$

これらの平均線エネルギーは離散的なエネルギー付与を表し、放射線の線質特定に用いる物理量としては、LETのような連続的なエネルギー付与を表す値と比較してより適切である[10]。

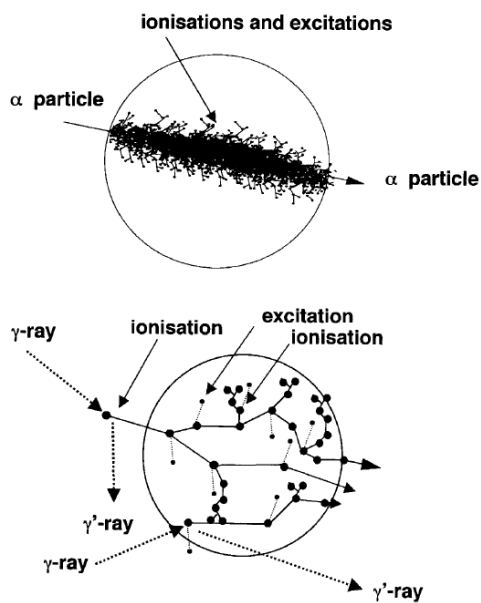


図 1-5 高 LET 放射線（上）および低 LET 放射線（下）飛跡の概略図[11]

1.3. 光子線照射後に誘発される生物学的影響の概要

光子線（X線、 γ 線）が生体組織へ入射した際、時間経過とともに様々な現象が誘発される。まず、光子線が生体組織と相互作用（光電効果、コンプトン散乱）を起こすことにより、二次電子線が発生する。二次電子線は生体組織との衝突によりエネルギーを失いながら進むが、その際の衝突反応の内、電離、励起といった非弾性散乱により核酸分子やタンパク質分子、脂質等の生体分子、その中でも特にDNA構造が損傷を受ける。この過程は物理学的過程と称され、放射線照射後 10^{-15} 秒までの期間に引き起こされる。物理学的過程により、生体組織が二次電子線により直接損傷されるものを直接作用と呼ぶ。

また、生体組織内の水分子が電離、励起されることにより生成されるラジカルがDNA構造と反応することでも損傷が生じる。このように、二次電子線がラジカルの反応を介して生体組織へ損傷を与えるものを間接作用と呼ぶ。二次電子線と生体組織との反応により生成されるラジカル種は表 1-2 に示す 11 種類である。哺乳類細胞株への X 線照射実験では、OH ラジカルが誘発する細胞死が全体の 62 %であると報告されており[14]、直接作用による損傷と比較して間接作用による損傷の方が細胞死への寄与が大きい。放射線照射後 10^{-15} - 10^{-12} 秒で表 1-2 に示すラジカル種が生成され、その後、 10^{-12} - 10^{-6} 秒の間に拡散や反応が繰り返される。細胞内にはラジカルと反応し消去する物質（ラジカルスカベンジャー, radical scavenger）が存在するため純粋中ほど拡散せず、OH ラジカルの場合、拡散距離は約 6 nm である[15]。また、平均寿命は約 3.7 nsec であると報告されている[15]。ラジカルの拡散係数 D (10^{-9} $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$) は実験的に求められる値であり、その種類により異なる。液相水中においてラジカルがブラウン運動をすることにより、ラジカルの挙動は微小時間に区切ることにより step-by-step で表現することが可能である。1 ステップあたりの二乗平均平方根距離 (root mean square distance, RMS distance) は(1-8)式にて求められる[16]。

$$\lambda = \sqrt{6D\tau} \quad (1-8)$$

ここで、 τ はタイムステップ (s) を表す。さらに、各ラジカル種同士の反応を表 1-3 に示す。ラジカル種同士の距離が、反応半径 a (nm) の 2 倍の距離を下回った際に反応を引き起こす。 a は(1-9)式により求められる[16]。

$$a = \frac{k}{4\pi(D_A + D_B)} \quad (1-9)$$

ここで、 D_A 、 D_B はそれぞれラジカル A、ラジカル B の拡散係数を示し、 k は反応速度定数 ($10^{10} \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$) (表 1-3) を示す。

DNA 損傷に損傷が生じた場合、細胞周期内のチェックポイント (check point) により細胞周期が停止する[17]。各周期に存在するチェックポイントは各々の機序により DNA 修復もしくは細胞死を誘発する。DNA の修復は 1.3.1.章に後述する損傷の種類によって異なる修復機構が働く。修復機構により正常に修復されない場合、染色体異常を経て細胞死を誘発する[18]。細胞死の主な機序にアポトーシス (apoptosis) が存在し、細胞内部の異常 (DNA 損傷等) や周囲の組織からのシグナルにより細胞膜の収縮、DNA 断片化を引き起こす細胞死である[19]。アポトーシスにより縮小した細胞は貪食細胞により処理されるため、炎症を起こさない[19]。また、放射線が照射された細胞 (標的細胞) からのシグナル伝達による放射線の照射されていない細胞 (非標的細胞) への損傷効果 (バイスタンダー効果, bystander effect) や非標的細胞による放射線抵抗 (組織代償効果) といった現象が細胞間で行われる[19]。これらの作用を経由し組織全体が損傷され、さらに後発的な影響としてがん化といった重篤な障害を誘発する[18]。生物学的影響が発現するまでの間、これらの事象は図 1-7 に示されるように、物理学的過程、化学的過程、生物学的過程の3つに大別される[18]。

表 1-2 ラジカル種と拡散係数 D ($10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$)。Root mean square distance λ (nm) は $\lambda = (6D\tau)^{1/2}$ により計算された[16]。

Species	D	λ ($\tau = 10^{-12}\text{s}$)
OH	2.8	0.130
e^-_{aq}	4.5	0.164
H	7.0	0.205
H_3O^+	9.0	0.232
H_2	5.0	0.173
H_2O_2	2.2	0.115
HO_2	2.0	0.110
O_2	2.1	0.112
OH^-	5.0	0.173
O_2^-	2.1	0.112
HO_2^-	2.0	0.110

表 1-3 化学反応の種類と反応速度定数 k ($10^{10} \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$)。反応半径 a (nm) は $a = k/4\pi(D_A + D_B)$ により計算された[16]。

Reaction (A + B)	Products	k	a
OH + OH	---> H ₂ O ₂	0.6	0.1416
OH + e ⁻ _{aq}	---> OH ⁻	2.5	0.4525
OH + H	---> H ₂ O	2.0	0.2697
OH + H ₂	---> H	0.0045	0.00076
OH + H ₂ O ₂	---> HO ₂	0.0023	0.00061
OH + HO ₂	---> O ₂	1.0	0.2753
OH + O ₂ ⁻	---> O ₂ + OH ⁻	0.9	0.2427
OH + HO ₂ ⁻	---> HO ₂ + OH ⁻	0.5	0.1376
e ⁻ _{aq} + e ⁻ _{aq}	---> H ₂ + 2OH ⁻	0.55	0.0807
e ⁻ _{aq} + H	---> H ₂ + OH ⁻	2.5	0.2873
e ⁻ _{aq} + H ₃ O ⁺	---> H	1.7	0.1664
e ⁻ _{aq} + H ₂ O	---> OH + OH ⁻	1.3	0.2564
e ⁻ _{aq} + HO ₂	---> HO ₂ ⁻	2.0	0.4066
e ⁻ _{aq} + O ₂	---> O ₂ ⁻	1.9	0.3804
e ⁻ _{aq} + O ₂ ⁻	---> OH ⁻ + HO ₂ ⁻	1.3	0.2603
H + H	---> H ₂	1.0	0.0944
H + H ₂ O ₂	---> OH	0.01	0.00144
H + HO ₂	---> H ₂ O ₂	2.0	0.2936
H + O ₂	---> HO ₂	2.0	0.2904
H + OH ⁻	---> e ⁻ _{aq}	0.002	0.00022
H + O ₂ ⁻	---> HO ₂ ⁻	2.0	0.2904
H ₃ O ⁺ + OH ⁻	---> H ₂ O	10.0	0.9439
H ₃ O ⁺ + O ₂ ⁻	---> HO ₂	3.0	0.3571
H ₃ O ⁺ + HO ₂ ⁻	---> H ₂ O ₂	2.0	0.2403
HO ₂ + HO ₂	---> H ₂ O ₂ + O ₂	0.000076	0.000025
HO ₂ + O ₂ ⁻	---> O ₂ + HO ₂ ⁻	0.0085	0.00274

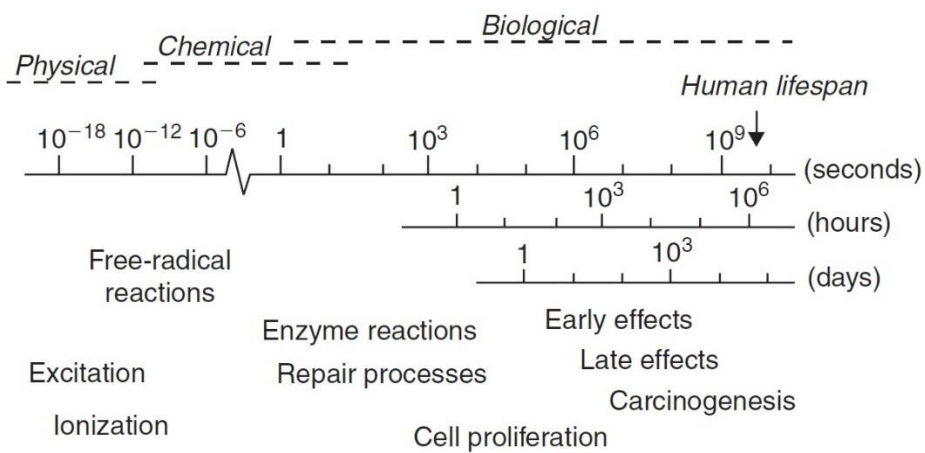


図 1-6 生体組織への放射線照射時に誘発される影響のタイムスケール[18]

1.4. 放射線照射により誘発される DNA 損傷

1.4.1 DNA 損傷の主な種類

DNA は遺伝情報をもつ物質の最小単位である。DNA は、図 1-7 に示すように二重らせん構造 (DNA 鎖) を持ち、らせん間に塩基対を持つ。塩基はアデニン (adenine)、シトシン (cytosine)、グアニン (guanine)、チミン (thymine) の 4 種類が存在し、これらの配列が遺伝子情報を表現する[20]。DNA 鎖はヒストンタンパク質に巻き付くように格納されており、この構造をヌクレオソームと呼ぶ。ヌクレオソームは図 1-8 に示されるように凝縮され、染色体を形成する[21]。

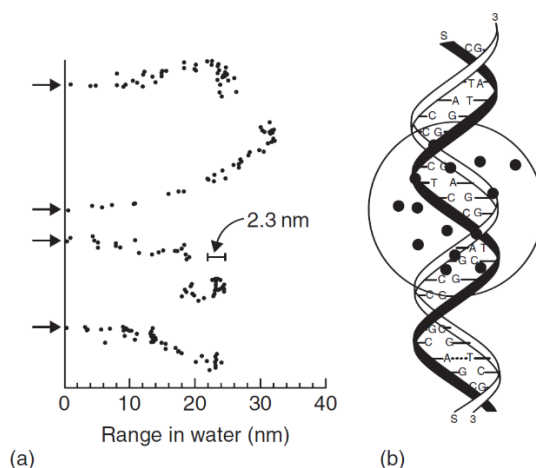


図 1-7 (a) シミュレーションにより解析された 1 keV 電子線飛跡。2.3 nm のスケールバーは、DNA らせん構造に設置された球の直径と対応する。(b) DNA 鎖上に非弾性散乱 (電離、励起) がクラスターを形成することにより、局所的に複数の DNA 損傷が誘発される概要図。[17]

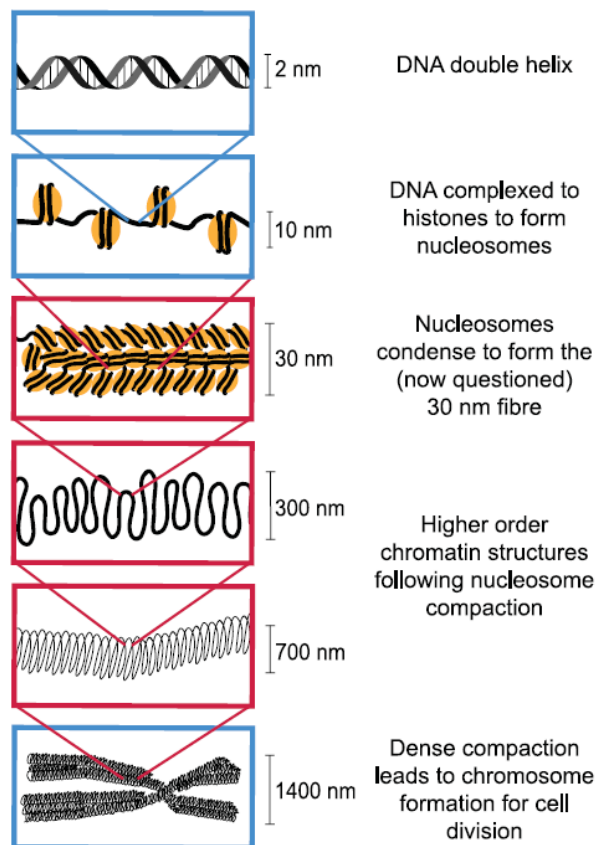


図 1-8 様々な DNA 格納構造の概略図[21]

前述の通り、DNA 損傷は、電離放射線入射後に生成される二次電子と生体組織との相互作用（電離、励起）により誘発される（1.2を参照）。DNA 損傷は、損傷箇所によって分類され、DNA 鎖の一方に損傷のあるものを DNA 一本鎖切断（DNA single-strand breaks, SSB）、10 塩基対内（3.4 nm 以内）に両方の鎖に損傷のあるものを DNA 二本鎖切断（DNA double-strand breaks, DSB）、塩基が損傷されるものを塩基損傷（DNA base damage, BD）、DNA とタンパク質との架橋構造（crosslink）とする[12,22]。DNA 損傷の中で、DSB は複雑な損傷であり修復が困難であり、追加の損傷の有無によってさらに分類される（図 1-9）。追加の損傷がないものを simple DSB、DSB の両端から 10 塩基対内に 1 つの鎖切断があるものを DSB+、DSB の両端から 10 塩基対内にさらにもう一つの DSB があるものを DSB++とする[12]。DSB+および DSB++は総じて complex DSB と呼ばれる。complex DSB の他にも、SSB より 10 塩基対以内に追加の BD が存在する損傷や、10 塩基対以内に複数の BD のある損傷が複雑な損傷として定義される（図 1-9） [24]。complex DSB を含めた複雑な損傷は、simple DSB と比較してさらに修復が困難である可能性が示唆されており[23]、これらの損傷の生成率が細胞の生存率に深く関わるということが考えられる。これらの複雑な損傷を総称してクラスター DNA 損傷（clustered DNA damage）と呼ぶ。

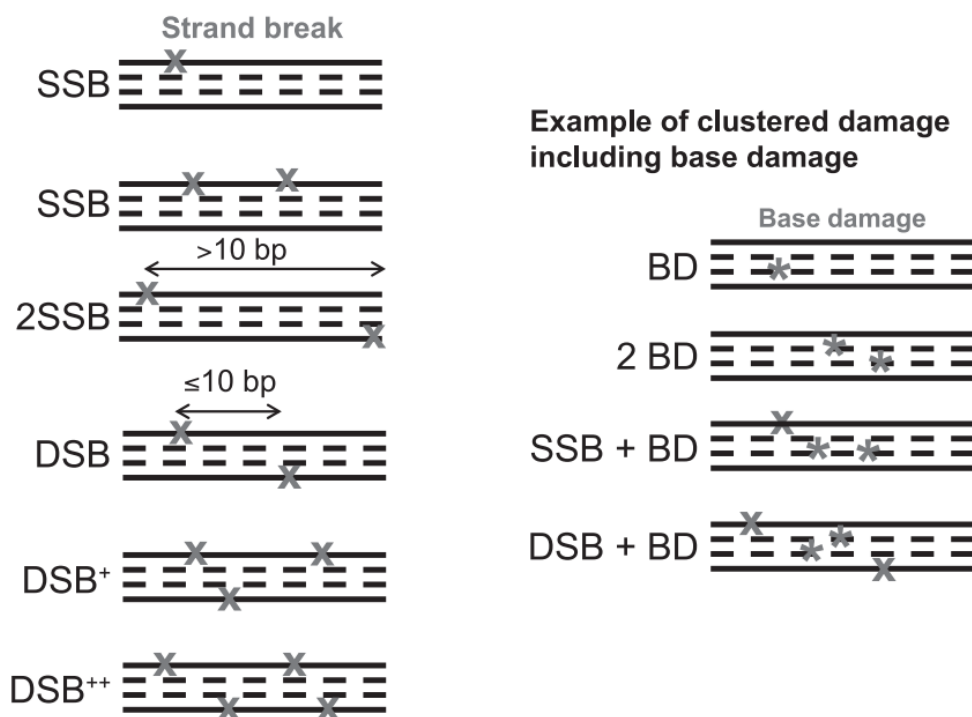


図 1-9 電離放射線または内因性イベントによって誘発される DNA 損傷の構造。“X”は、DNA 鎖切断または塩基損傷を示す。損傷の原因には、直接的なエネルギー付与またはヒドロキシルラジカルの拡散が含まれる[24]。

表 1-4 さまざまな種類の DNA 損傷[24]

BD	= isolated base damage
SSB	= isolated (=simple) SSB
SSB+	= 2 or more SSBs on the same strand
SSB _C	= complex SSB = SSB++ + 2 SSBs
SSB _{CB}	= complex SSB associated with base damage
2SSB	=2 SSBs on opposite strands with the separation distance > 10 bp
Non-DSB damage	= no break + SSB + SSB+ +2 SSBs
DSB	= isolated (= simple) DSB
DSB+	= DSB with an additional SSB on one strand
DSB++	= at least two DSBs in close proximity

1.4.2 DNA 二本鎖切断の修復過程

DNA 損傷は、その種類によって異なる修復経路を持つ。ここでは、生物学的影響を議論する上で重要な DSB の修復過程を解説する。

DSB が発生すると、ヒストンタンパク質の一種である H2AX (H2A histone family member X) がリン酸化される[25]。H2AX のリン酸化は DSB の両端から 25 kb に渡り[26]、リン酸化された H2AX は γ -H2AX と呼ばれる。 γ -H2AX は、DSB の位置を伝達する働きがあり、MRN 複合体 (MRE11/RAD50/NBS1) や MDC1、53BP1、BRCA1、NBS1 を含むタンパク質が集積する (図 1-10) [27]。これらのタンパク質がシグナルを増幅し、後述の修復タンパク質の集積に寄与する。

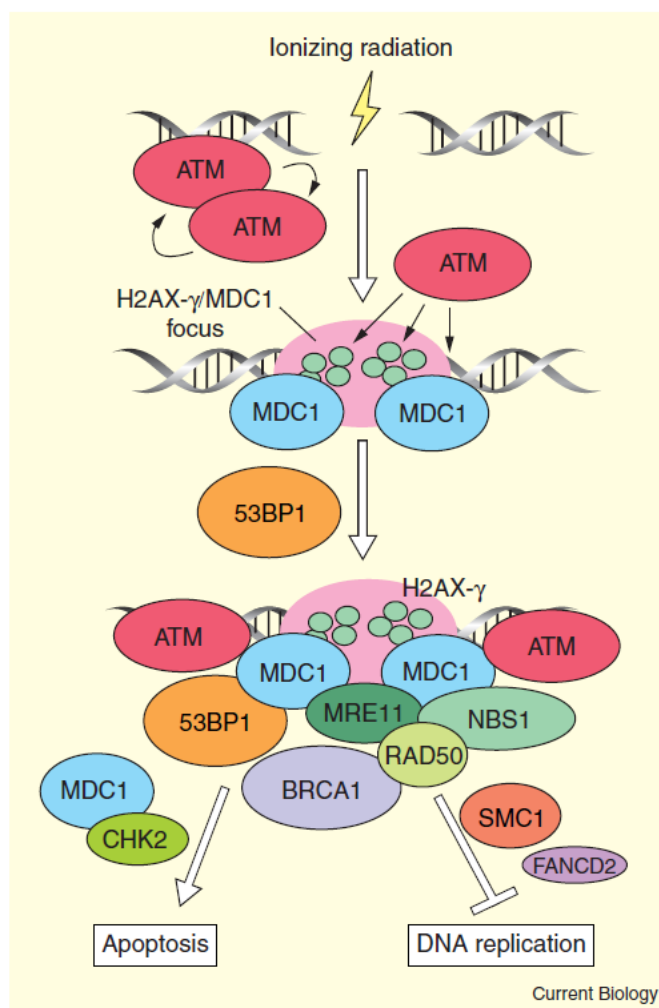


図 1-10 DSB 部位へのタンパク質発現の機序[27]

DSBを修復する際、発現する修復タンパク質やDNA鎖の再結合方法は、相同組換え (homologous recombination, HR) および非相同組換え (non-homologous end-joining, NHEJ)、マイクロホモロジー媒介末端結合 (microhomology mediated end-joining, MMEJ) の3種類である[28]。これらの修復過程は細胞周期に依存し、HRはS/G2期、NHEJはG1期において発現する[29,30]。

- 相同組換え (homologous recombination, HR)

HRは、DNAの損傷部位と類似または同一の配列を鋳型として使用する修復であり、NHEJと比較して正確な修復が可能である[30]。鋳型として使用されるのは姉妹染色分体 (DNA複製後に生成される同一の遺伝情報を持つ1対の染色体) であるため、S/G2期の細胞にのみ有効な修復である。まず、CtBP相互作用タンパク質 (CtIP)と共に、MRN複合体によるDNA切断部位の末端が切除され、一本鎖を生成する。一本鎖が自身と結合し二次構造となるのを防ぐため、複製タンパク質A (RPA) によって保護される。BRCA2はRAD51によってRPAと置換され、姉妹染色分体上の相同配列を探すための核酸タンパク質フィラメントを形成する。その後、DNA末端は姉妹染色分体上の相同配列を鋳型として使用し伸長する。塩基配列の復元後、他方の切断部位と接合し、修復が完了する[30]。

- 非相同組換え (non-homologous end-joining, NHEJ)

NHEJでは、まず切断の両端にKu70/Ku80ヘテロ二量体が結合し、損傷の末端を保護する。Kuヘテロ二量体により、DNA依存性プロテインキナーゼ (DNA-PKcs) の触媒サブユニットが誘導される。その後Artemisにより必要に応じて損傷の末端が後発の反応に適用するよう処理され、リガーゼIVおよび2種類のタンパク質 (XRRC4、XLF) によりライゲーシオン (DNAリガーゼを用いてDNA分子を連結する) される[30]。(図1-12を参照)

- マイクロホモロジー媒介末端結合 (microhomology-mediated end-joining, MMEJ)

NHEJによる修復経路の初期に誘導されるKu70/Ku80ヘテロ二量体が欠損等に

より誘導されない場合、Ku70/Ku80 ヘテロ二量体を必要としない別の経路により DSB の修復が行われる (図 1-11) [31]。このような NHEJ に対する代替的な経路は、MMEJ または backup NHEJ、alternative NHEJ (alt-NHEJ) と呼ばれ、図 1-13 に示す経路により修復される[28,32]。MMEJ では、5-20 bp 程度の相補的な塩基対が出現するまで各切断部位の一方の末端が、PARP-1 により誘導された MRN および CtIP で切除される。最終的に、両方の鎖は LigIII-XRCC1 複合体 (LigIII/XRCC1) によって結紮される。MMEJ による修復は比較的遅く、NHEJ よりもさらに誤修復が多いことが示されている[28]。

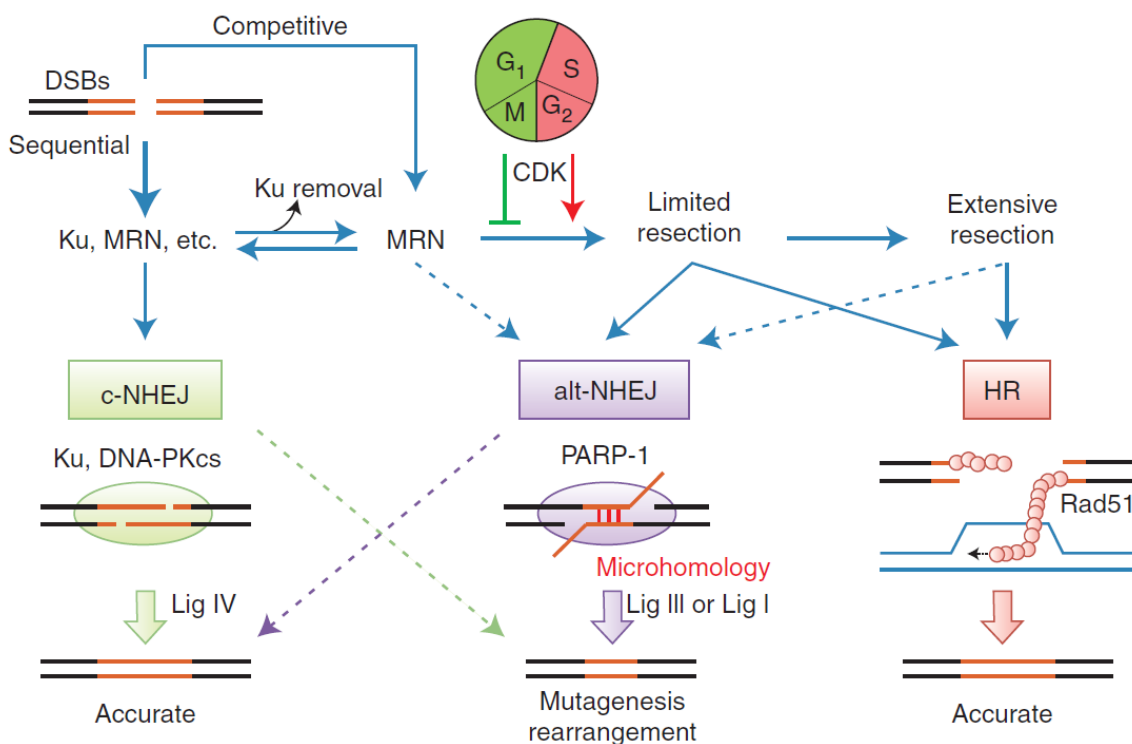


図 1-11 c-NHEJ、alt-NHEJ、および HR と、これらの修復経路間の DSB の配置に影響を与える要因との関係の概略図[28]。

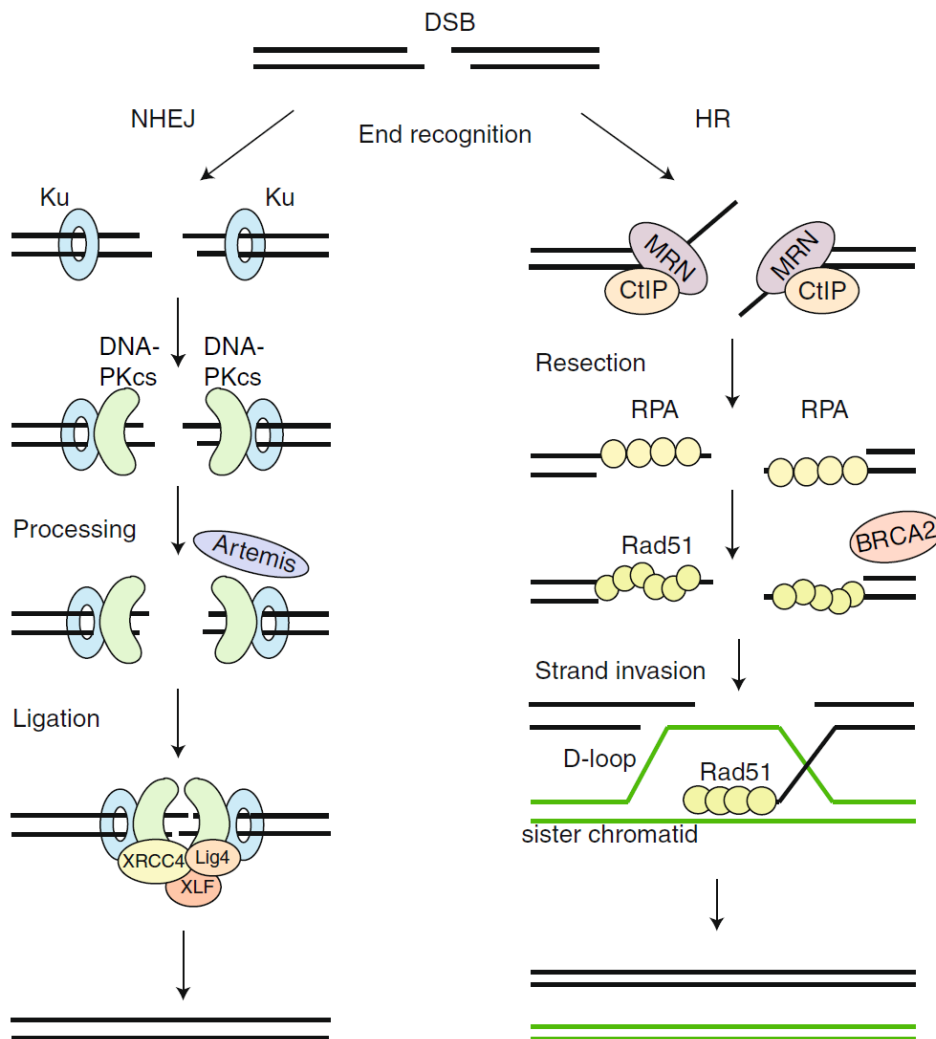


図 1-12 相同組換え (homologous recombination, HR) と非相同組換え (non-homologous end-joining, NHEJ) における修復過程[30]

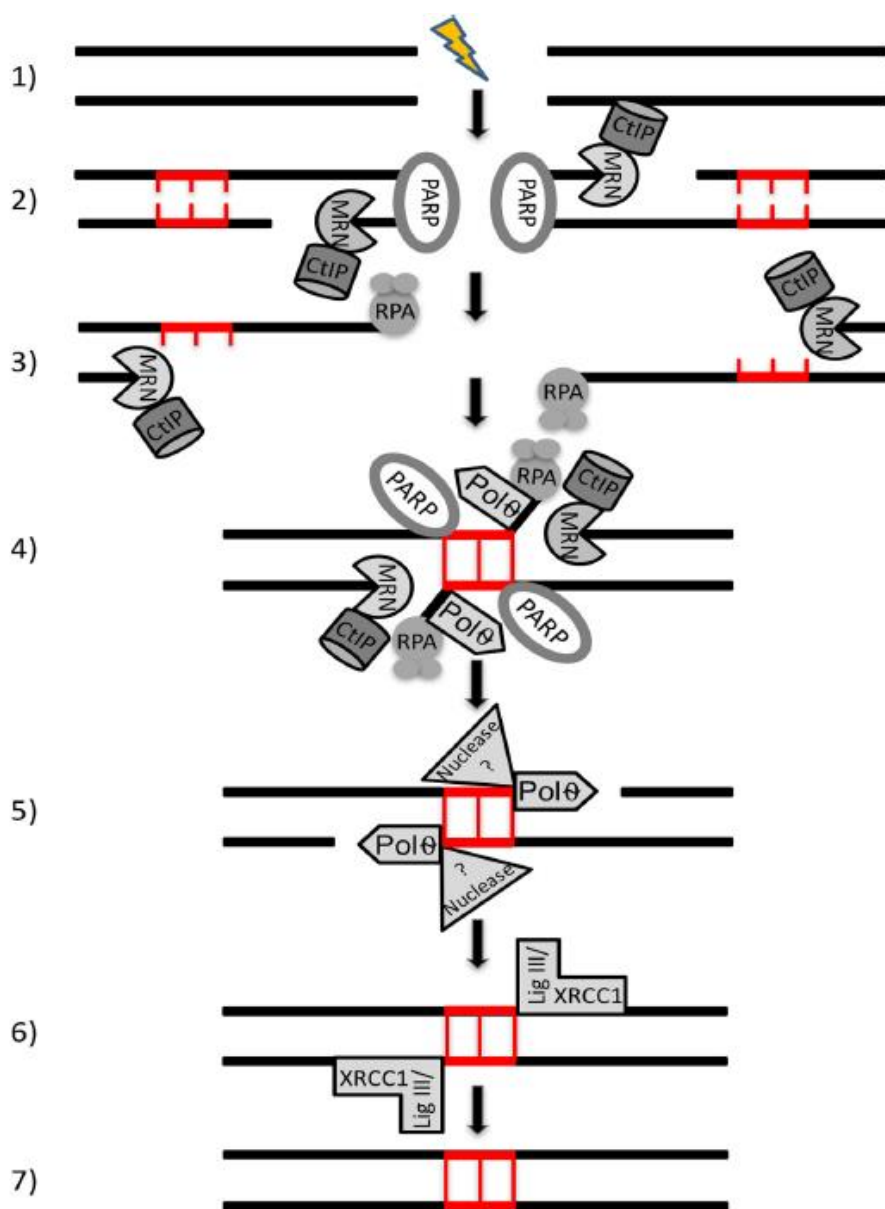


図 1-13 マイクロホモロジー媒介末端結合 (microhomology-mediated end-joining) による DSB 修復[32]

DSB に関して、前述の機序により修復が行われることが知られている。これらの修復経路により修復されなかった細胞は、1.2.章で前述した細胞周期チェックポイントを経てアポトーシスによる細胞死を誘発される。しかし、complex DSB のような複雑な損傷に関しては未だ解明されておらず、異なる機序を経て修復が行われる可能性がある。

また、生物学的影響を評価するにあたり、DSB の修復過程において発現するタンパク質に着目することにより、DSB 生成率を定量化する実験的手法の開発が行われている。 γ -H2AX や 53BP1 といった修復過程で発現するタンパク質を抗体で標識することにより、間接的に DSB を検出することが可能である。特に、免疫蛍光染色を行い蛍光顕微鏡で観察することにより、細胞核内の γ -H2AX の空間パターンを解析することが可能である。

1.5. モンテカルロシミュレーションによる電子線輸送

1.5.1 モンテカルロシミュレーションの概要

モンテカルロ法 (Monte Carlo method) とは、(疑似) 乱数を用いるシミュレーション技法の総称である[33]。モンテカルロ法では、解析的手法を用いることが困難な事象を模擬し、演繹的に調べることが可能である[34]。対象となる現象の素過程の確率法則が明らかである場合、それらの過程を実際に起こったかのように計算機上で生成し、系全体の挙動を調べることができる[33]。

放射線挙動解析におけるモンテカルロ法は、当初は中性子の物質中における統計的な挙動を解析するために適用された。しかし、電子など、標的との衝突を繰り返しながら物質を通過する他の粒子線にも徐々に適用が拡大されてきた。現在では、表 1-5 に示す通り様々な放射線飛跡解析モンテカルロシミュレーションコードが開発されている。各コードの飛跡解析モデルは、condensed-history physics model [35]と第一原理計算 (first-principles method) に大別される。condensed-history physics model を用いた解析では、多重散乱理論と阻止能を利用することにより、各衝突反応を平均化することで計算コストを抑えることが可能であるが[35]、個々の相互作用の発生位置や付与

エネルギーを詳細に解析することができないため、マイクロメートルスケール以下の微視的空間に対するエネルギー付与分布の解析には不適切である。一方、第一原理計算に基づく解析モデルでは、膨大な回数の衝突反応を解析するため計算コストはかかるが、condensed-history physics model では解析できない微視的エネルギー付与分布の解析が可能であり、 y_D 値の計算や DNA 損傷の解析に用いられる。

表 1-5 放射線飛跡解析 MC コードの種類

MC code	Simulation model	Ref
PARTRAC	first-principles method	[36]
KURBUC	first-principles method	[37]
EGS5	condensed-history physics model	[38]
PENELOPE	condensed-history physics model	[39,40]
Geant4-DNA	first-principles method	[41]
PHITS (<i>etsmode</i>)	first-principles method	[8,9,42]
WLTrack	first-principles method	[43]

1.5.2 第一原理計算による電子線輸送の概要

モンテカルロシミュレーションによる電子線飛跡構造の解析モデルは、コードによって異なる[44]。ここでは、本研究にて使用される WLTrack および PHITS に実装された *etsmode* の解析手法である、第一原理計算による解析方法を説明する。

第一原理計算による模擬手法では、電子と液相水との衝突間の距離（平均自由行程, mean-free path）・衝突の種類・衝突後の電子の散乱方向を、乱数を用いて決定する。これらの計算を全ての衝突間で行うことにより、電子線飛跡全体の構造を模擬する。

● 平均自由行程（mean-free path）

図 1-14 のように、ある板状体積 ($S\Delta x$) に断面積 σ の標的（物質の電子や原子核）が数密度 N で存在する場合を考える。入射粒子が標的と衝突する確率は、面積 S に対する標的の断面積の総和であるから、

$$\frac{\sigma N S \Delta x}{S} = \sigma N \Delta x \quad (1-10)$$

と表される。いま、物質厚さ x まで進む粒子数を $n(x)$ 、 $x+\Delta x$ まで進む粒子数を

$n(x+\Delta x)$ とすると、 Δx 進む間に衝突する粒子数は(A-1)式の確率を用いて、

$$n(x) - n(x + \Delta x) = \sigma N \Delta x \cdot n(x) \quad (1-11)$$

$$\frac{n(x + \Delta x) - n(x)}{\Delta x} = -\sigma N \Delta x$$

ここで、板の厚さ Δx は限りなく薄くすることができるから、 $\Delta x \rightarrow 0$ の極限をとって

$$\frac{dn(x)}{dx} = -\sigma N n(x) \quad (1-12)$$

この1階線形微分方程式を解くと、

$$n(x) = C \cdot \exp(-\sigma N x) \quad (1-13)$$

C は任意の定数である。 $n(0) = n_0$ の境界条件下では、

$$n(x) = n_0 \cdot \exp(-\sigma N x) \quad (1-14)$$

とできる。

粒子が距離 x まで衝突なしで進む確率 $P(x)$ は、

$$P(x) = \frac{n(x)}{n_0} = \exp(-\sigma N x) \quad (1-15)$$

衝突確率 P' は $P' = 1 - P$ であるから、 $1 - P = r$ (r : 乱数)として、

$$P = \exp(-\sigma N x) = 1 - r$$

$$\ln(1 - r) = -\sigma N l \quad (1-16)$$

$$l = -\frac{\ln(1 - r)}{\sigma N}$$

r が一樣乱数であるとき、 $\xi = 1 - r$ も一樣乱数であるから、これを用いて

$$l = -\frac{\ln \xi}{\sigma N} \quad (1-17)$$

と表される[45]。(1-17)式より、標的粒子の数密度と衝突断面積が与えられることにより、乱数を用いて平均自由行程を決定することが可能となる[45]。

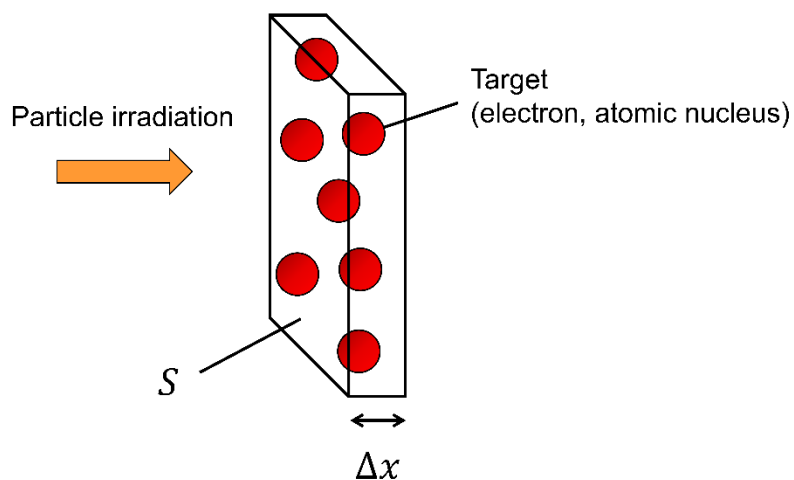


図 1-14 標的の微小体積 $S\Delta x$ の概略図[45]

- 衝突反応の決定

1.1.1.2 章で先述の通り、電子と物質との衝突反応（相互作用）の種類は、電子衝突断面積によって確率的に決定される。各シミュレーションコードにて採用されている断面積は異なるが、ここでは一例として、WLTrack に実装されている断面積を図 1-15 に示す。各断面積は、表 1-6 に示す文献値を実装した。

非弾性散乱において電子線が液相水へ付与するエネルギーは表 1-7 に示される値である。各相互作用の付与エネルギーは、その相互作用が発生する閾エネルギーでもあり、閾エネルギー以下の電子線エネルギーでは、その相互作用は発生しない。

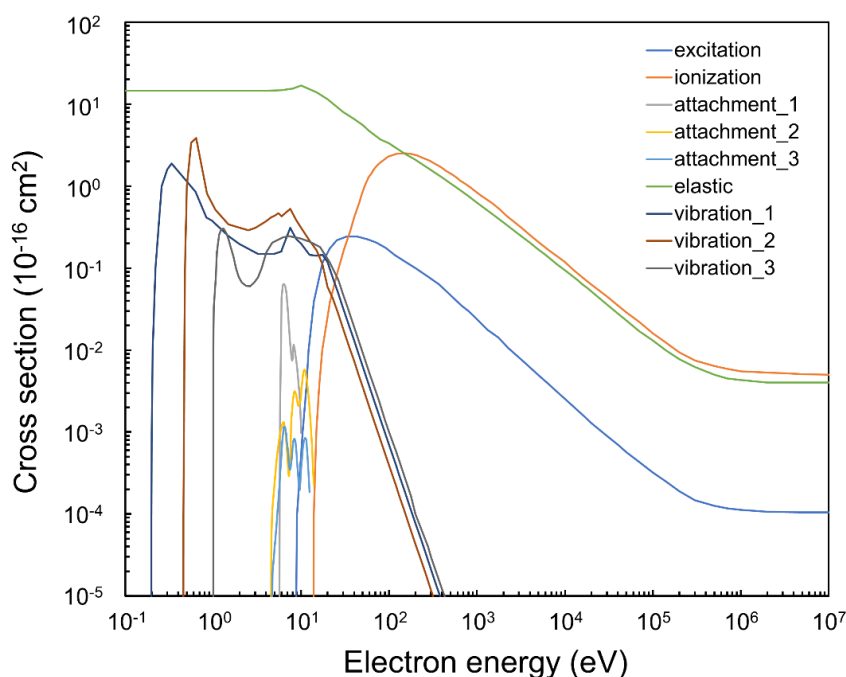


図 1-15 WLTrack に実装されている各相互作用の電子衝突断面積。各断面積データは表 1-6 に示す。

表 1-6 WLTrack に実装されている電子衝突断面積

Type of interaction	Reference
elastic scattering	Danjo, A. and Nishimura, H. 1985 (the quadruple of reference data) [46]
electron excitation	Emfietzoglou, D. 2003 [47]
ionization	Emfietzoglou, D. 2003 [47]
vibrational excitation	Seng, G. and Linder, F. 1976 and El-Zein, A. A. A. et al. 2000 [48-49]
DEA	Melton, C. E. 1972 [50]

表 1-7 非弾性散乱の付与エネルギー

Type of interaction	Deposit energy (eV)
Ionization	13.65 [47]
Electron excitation	8.22 [47]
Vibrational excitation (bending)	0.1978 [48-49]
Vibrational excitation (symmetric stretch, asymmetric stretch)	0.4534 [48-49]
Vibrational excitation (other kind)	1.00 [48-49]

● 衝突後の電子の散乱方向

衝突後の電子の散乱について座標上に表現したものを図 1-16 に示す。衝突後の電子の散乱方向は、(x, y, z)座標系での衝突前後の速度方向単位ベクトルをそれぞれ (l_0, m_0, n_0) 、 (l, m, n) とし、衝突により変換される角度を (ω, χ) とすると式(1-18)で表される。

$$\begin{aligned}
 l &= l_0 \cos \omega + \frac{1}{S_0} (l_0 n_0 \sin \omega \cos \chi - m_0 \sin \omega \sin \chi) \\
 m &= m_0 \cos \omega + \frac{1}{S_0} (m_0 n_0 \sin \omega \cos \chi - l_0 \sin \omega \sin \chi) \\
 n &= n_0 \cos \omega - S_0 \sin \omega \cos \chi
 \end{aligned} \tag{1-18}$$

ここで、 S_0 は衝突前の角度を (θ, φ) としたとき $S_0 = \sin \theta$ である。角度 (ω, χ) は、微分断面積により確率的に決定される。

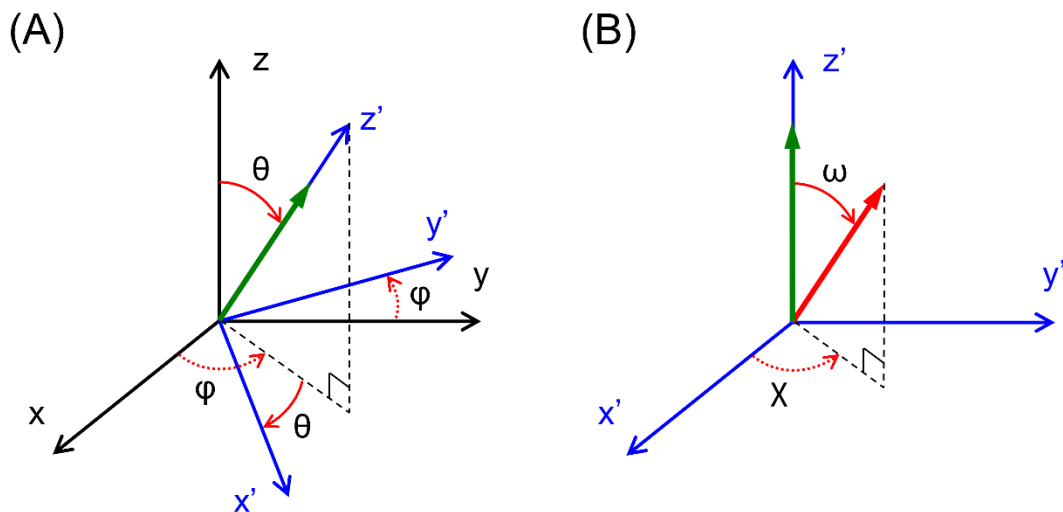


図 1-16 電子衝突後の散乱方向 (x,y,z)座標上における散乱前の速度ベクトル (緑矢印) (A) および散乱前の速度ベクトルを z'軸とする回転座標系(x', y', z')上の散乱後の速度ベクトル (赤矢印) (B) を示す[45]。それぞれの単位ベクトルを (l_0, m_0, n_0) 、 (l, m, n) とすると、2つの単位ベクトルの関係は(1-18)式で表される。

1.6. 本論文における研究目的

現在まで、放射線防護・放射線治療に関する生物学的影響評価に関する様々な研究は行われてきたが、とくに物理学的過程から生物学的過程初期応答を評価する方法論には依然として改善の余地がある。本論文では、放射線照射後の物理学的過程（電子線による電離、励起の発生）を MC コードによって解析することで、光子線および電子線照射における生物学的影響を DNA 損傷の生成によって評価することを目的とした。とくに、メカニズムの解明が不十分である complex DSB について生成率を定量化することは、放射線照射後の生物学的影響の正確な評価へ貢献することが期待される。本論文では、DNA 損傷生成率解析による生物学的影響評価に関する基礎研究および応用研究を行い、それぞれの研究成果を第 2 章および第 3 章に記述した。第 2 章では、MC コードによる電子線飛跡構造解析を組み合わせることにより、複雑な DNA 損傷生成に対する新たな解析手法を開発した。また、第 3 章では、MRI を融合した新たな放射線治療にて、磁界下における電子線照射が、飛跡構造や DNA 損傷生成に及ぼす影響について評価した。第 4 章では、本論文全体の総括と、2 課題に対する今後の課題を記述した（図 1-17）。

第1章 緒言（本章）

第2章 **基礎研究**

電子線飛跡構造解析に基づく複雑なDNA損傷生成の実験的解析

モンテカルロコードを組み合わせたcomplex DSB測定手法を開発

Yachi, Y., Matsuya, Y., Yoshii, Y., Fukunaga, H., Date, H., Kai, T. An Analytical Method for Quantifying the Yields of DNA Double-Strand Breaks Coupled with Strand Breaks by γ -H2AX Focus Formation Assay Based on Track-Structure Simulation. *Int. J. Mol. Sci.* **24**: 1386 (2023).

第3章 **応用研究**

MRI融合放射線治療にて磁場が飛跡構造およびDNA損傷生成率に与える影響の推定

MRIを融合した新たな放射線治療（MRgRT）に対する初期のDNA損傷生成のモンテカルロシミュレーション

Yachi, Y., Kai, T., Matsuya, Y., Hirata, Y., Yoshii, Y., Date, H. Impact of the Lorentz Force on Electron Track Structure and Early DNA damage yields in Magnetic Resonance-Guided Radiotherapy. *Sci. Rep.* **12**: 16412 (2022).

第4章 総括および今後の展望

図 1-17 本論文の構成

参考文献

1. Verhaegen, F. and Castellano, I. A. Microdosimetric characterisation of 28 kVp Mo/Mo, Rh/Rh, Rh/Al, W/Rh and Mo/Rh mammography X ray spectra. *Radiat. Prot. Dosimetry*. **99**(1-4):393-396 (2002).
2. 保吉和貴, 大村知己, 茅野伸吾, 後藤光範, 村松駿, 本間経康. CT における X 線エネルギー—基礎から臨床応用まで— 日本放射線技術学会誌. **78**(5): 449-463 (2022).
3. Hashemi, S. M. et al. Measurement of Photoneutron Dose Produced by Wedge Filters of a High Energy Linac Using Polycarbonate Films. *J. Radiat. Res.* **49**: 279-283 (2008).
4. ICRP, 2007. 2007 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. ICRP Publication 103. Ann. ICRP 37 (2-4).
5. Nikjoo, H., Uehara, S. & Emfietzoglou, D. 2. Basic Knowledge of Radiation. In: Nikjoo H, Uehara S, Emfietzoglou D. *Interaction of radiation with matter*. Boca Raton: CRC Press; 15–34 (2012).
6. Nikjoo, H., Uehara, S. & Emfietzoglou, D. 7. Interaction of Photons with Matter. In: Nikjoo H, Uehara S, Emfietzoglou D. *Interaction of radiation with matter*. Boca Raton: CRC Press; 89–102 (2012).
7. Nikjoo, H., Uehara, S., Emfietzoglou, D. and Cucinotta, F. A. Track-structure codes in radiation research. *Radiat. Measur.* **41**(9-10): 1052-1074 (2006).
8. Kai, T., Yokoya, A., Ukai, M. and Watanabe, R. Cross sections, stopping powers, and energy loss rates for rotational and phonon excitation processes in liquid water by electron impact. *Radiat. Phys. Chem.* **108**: 13-17 (2015).
9. Kai, T., Yokoya, A., Ukai, M., Fujii, K., and Watanabe, R. Thermal equilibrium and prehydration processes of electrons injected into liquid water calculated by dynamic Monte Carlo method. *Radiat. Phys. Chem.* **115**: 1–5 (2015).
10. ICRP, 1991. 1990 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. ICRP Publication 60. Ann. ICRP 21 (1-3).
11. Pouget, J. P. and Mather, S. J. General aspects of the cellular response to low- and high-LET radiation. *Eur. J. Nucl. Med.* **28**(4): 541-61 (2001).
12. Nikjoo, H., O'Neill, P., Goodhead, D. T., Terrissol, M. Computational modelling of low-energy electron-induced DNA damage by early physical and chemical events. *Int. J. Radiat. Biol.* **71**(5): 467-83 (1997).
13. ICRU. Microdosimetry. Report 36. International Commission on Radiation Units and Measurements. Bethesda: MD (1983).
14. Chapman, J. D., Reuvers, A. P., Borsa, J., Greenstock, C. L. Chemical radioprotection and radiosensitization of Mammalian cells growing in vitro. *Radiat Res.* **56**: 291-306 (1973).
15. Roots, R. and Okada, S. Estimation of Life Times and Diffusion Distances of Radicals Involved in X-Ray-Induced DNA Strand Breaks or Killing of Mammalian Cells. *Radiat. Res.* **64**: 306-320 (1975).
16. Uehara, S. and Nikjoo H. Monte Carlo Simulation of Water Radiolysis for Low-energy Charged Particles. *J. Radiat. Res.* **47**: 69-81 (2006).
17. Wouters, B. G. and Begg, A. C. Irradiation-induced damage and the DNA damage response. In: Joiner M. C. and van der Kogel A. J. (eds). *Basic Clinical Radiobiology*. London: Edward Arnold; p. 11–26 (2009).
18. Joiner, M. C., van der Kogel, A. J. and Steel, G. G. Introduction: the significance of radiobiology and radiotherapy for cancer treatment. In: Joiner M. C. and van der Kogel A. J. (eds). *Basic Clinical Radiobiology*. London: Edward Arnold; p. 1–10 (2009).
19. Wouters, B. G. Cell death after irradiation: how, when and why cells die. In: Joiner M. C. and van der Kogel A. J. (eds). *Basic Clinical Radiobiology*. London: Edward Arnold; p. 27–40 (2009).
20. Alberts, B. et al. Introduction to the cell. In: Alberts, B. et al. *Molecular biology of the cell* (5th edition). NY. USA: Taylor & Francis; p. 1-125.
21. Miriklis EL, Rozario AM, Rothenberg E, Bell TDM, Whelan DR. Understanding DNA organization, damage, and repair with super-resolution fluorescence microscopy. *Methods Appl. Fluoresc.* **9**(3): 032002 (2021).
22. Barker, S., Weinfeld, M., Murray, D. DNA-protein crosslinks: their induction, repair, and biological consequences. *Mutat. Res.* **589**(2): 111-35 (2005).
23. Ward, J. F. DNA damage produced by ionizing radiation in mammalian cells: identities, mechanisms of formation, and reparability. *Prog. Nucleic. Acid. Res.* **35**: 95–125 (1988).
24. Watanabe R, Rahmanian S, Nikjoo H. Spectrum of Radiation-Induced Clustered Non-DSB Damage - A Monte Carlo Track Structure Modeling and Calculations. *Radiat. Res.* **183**(5): 525-40 (2015).
25. Rogakou, E. P.; Boon, C.; Redon, C.; Bonner, W. M. Megabase chromatin domains involved in DNA double-strand breaks in vivo. *J. Cell Biol.* **146**: 905-916 (1999).
26. Bhogal, N., Jalali, F. and Bristow, R. G. Microscopic imaging of DNA repair foci in irradiated normal tissues. *Int. J. Radiat. Biol.* **85**(9): 732-746 (2009).
27. Canman, C. E. Checkpoint mediators: relaying signals from DNA strand breaks. *Curr. Biol.* **13**(12): R488-490 (2003).

28. Chirucella, K. K., Liang, Z. and Wilson, T. E. Repair of Double-Strand Breaks by End Joining. *Cold Spring Harbor Perspect. Biol.* **5**: a012757 (2013).
29. West, S. C. Molecular views of recombination proteins and their control. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **4**(6): 435-445 (2003).
30. Brandsma, I. and Gent, D. C. Pathway choice in DNA double strand break repair: observations of a balancing act. *Genome Integr.* **3**(1): 9 (2012).
31. McVey M, Lee SE. MMEJ repair of double-strand breaks (director's cut): deleted sequences and alternative endings. *Trends Genet.* **24**(11): 529-38 (2008).
32. Sallmyr, A., Tomkinson, A. E. Repair of DNA double-strand breaks by mammalian alternative end-joining pathways. *J. Biol. Chem.* **293**(27):10536-10546 (2018).
33. Nikjoo, H., Uehara, S. & Emfietzoglou, D. Introduction to Monte Carlo Simulation. In: Nikjoo H, Uehara S, Emfietzoglou D. Interaction of radiation with matter. Boca Raton: *CRC Press*; 137-151 (2012).
34. Chatzipapas, K. P. et al. Ionizing Radiation and Complex DNA Damage: Quantifying the Radiobiological Damage Using Monte Carlo Simulations. *Cancers* **12**(4): 799 (2020).
35. Nahum, A. E. Condensed-history Monte-Carlo simulation for charged particles: what can it do for us? *Radiat. Environ. Biophys.* **38**: 163-173 (1999).
36. Friedland, W., Dingfelder, M., Kunderát, P. and Jacob, P. Track structures, DNA targets and radiation effects in the biophysical Monte Carlo simulation code PARTRAC. *Mutat Res.* **711**(1-2): 28-40 (2011).
37. Nikjoo, H. et al. Radiation track, DNA damage and response-a review. *Rep. Prog. Phys.* 2016, **79**, 116601.
38. Hirayama, H.; Namito, Y.; Bielajew, A. F.; Wilderman, S. J.; Nelson, W. R. The EGS5 code system. SLAC Report 730, prepared for the Department of Energy, USA (2005).
39. Salvat, F. PENELOPE-2018: A code system for Monte Carlo simulation of electron and photon transport.
40. Sempau, J.; Acosta, E.; Baro, J.; Fernández-Varea, J. M.; Salvat, F. An algorithm for Monte Carlo simulation of coupled elec-tronphoton transport. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B* 1997, **132**, 377-390.
41. Incerti, S. et al. The Geant4-DNA project. *Int. J. Model. Simul. Sci. Comput.* **1**: 157-178 (2010).
42. Sato, T. et al. Features of Particle and Heavy Ion Transport code System (PHITS) version 3.02, *J. Nucl. Sci. Technol.* **55**: 684-690 (2018).
43. Date, H.; Sutherland, K. L.; Hasegawa, H.; Shimozuma, M. Ionization and excitation collision processes of electrons in liquid water. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B* **265**: 515-520 (2007).
44. Nikjoo, H., Uehara, S. & Emfietzoglou, D. Introduction. In: Nikjoo H, Uehara S, Emfietzoglou D. Interaction of radiation with matter. Boca Raton: *CRC Press*; 3-14 (2012).
45. 伊達広行, 吉井勇治, 佐々木恒平. 教育講座—モンテカルロシミュレーションの放射線技術への利用— 2. モンテカルロ法とシミュレーション. *日本放射線技術学会誌.* **70**(7): 705-714 (2014).
46. Danjo, A. and Nishimura, H. Elastic Scattering of Electrons from H₂O Molecule. *J. Phys. Soc. Jpn.* **54**(4): 1224-1227 (1985).
47. Emfietzoglou, D. Inelastic cross-sections for electron transport in liquid water: a comparison of dielectric models. *Radiat. Phys. Chem.* **66**: 373-385 (2003).
48. Seng, G. and Linder, F. Vibrational excitation of polar molecules by electron impact II. Direct and resonant excitation in H₂O. *J. Phys. Atom. Molec. Phys.* **9**(14): 2539-2551 (1976).
49. El-Zein, A. A. A., Brunger M. J. and Newell, W. R. Excitation of vibrational quanta in water by electron impact. *J. Phys. B: At. Mol. Opt. Phys.* **33**: 5033-5044 (2000).
50. Melton, C. E. Cross Sections and Interpretation of Dissociative Attachment Reactions Producing OH, O, and H in H₂O*. *J. Chem. Phys.* **57**(10): 4218-4225 (1972).

第2章

電子線飛跡構造解析に基づく 複雑な DNA 損傷生成の実験的解析

2.1. 緒言

光子線（X線、 γ 線）が生体組織内に入射すると、生体組織との相互作用（光電効果やコンプトン散乱、電子対生成）によって二次電子が生成される[1]。生成された二次電子線は、生体内を進む中で電離や励起といった非弾性散乱を引き起こすことで、細胞内の DNA 構造に損傷を与える[2]。DNA 損傷には、SSB、DSB、BD 等さまざまな種類がある[3]。これらのうち、DSB は複雑であり、細胞死を誘発する可能性のある有害な損傷とされている[4,5]。したがって、電離放射線照射後初期の生物学的影響を検討するとき、DSB 生成率や、DSB 生成率に基づいた生物学的効果比（Relative biological effectiveness, RBE）が評価される。DSB は、非相同末端結合（NHEJ）や相同組換え（HR）により修復される[6]。一方、DSB の両端から 10 bp 以内に追加の鎖切断が存在する損傷、いわゆる complex DSB は、修復がより困難であると考えられている[7]。したがって、放射線照射後の生物学的影響を評価するために、細胞死を誘発する可能性の高い complex DSB 生成率を、*in vitro* 実験を行い定量化する必要がある。

DSB 生成率を *in vitro* 実験により定量化する場合、 γ -H2AX focus 形成法が用いられる。これは、DSB が生成された際に行われる初期の修復過程において、ヒストン H2AX のリン酸化により生成される γ -H2AX を蛍光標識することにより、間接的に細胞核内 DSB を可視化する手法である[8]。この手法は、放射線生物学分野にて広く使用されている[9-11]。先行研究では、 γ -H2AX focus 形成法を用いて、DSB 生成率に基づいた RBE の光子線エネルギー依存性を評価し、DSB 生成率と二次電子線飛跡構造との関係を明らかにした[12,13]。一方、透過型電子顕微鏡（Transmission electron microscopy, TEM）や原子間力顕微鏡（Atomic force microscope, AFM）を用いたクラスター DNA 損傷の実験的解析手法が開発された[14-16]。これらの顕微鏡では DSB の複雑さを実験的に定

量化できるが、高価であり設置されている施設が限られている。より簡便な解析手法として、細胞核内 γ -H2AX foci のサイズが DSB の複雑さを反映していることが示唆されている[11,17]。しかし、蛍光顕微鏡の解像度（数百 nm～数 μ m）では DNA スケール（10-20 塩基対すなわち数 nm[15,18]）での画像解析を行うことができず、foci サイズから DSB の複雑さを明らかにする手法は確立されていない。

γ -H2AX foci サイズと DSB の複雑さの関係を解明するため、DNA 損傷生成率の解析に有用な手法である電子線飛跡構造解析 MC シミュレーションに着目した[19]。現在まで、KURBUC[20]、PENLOPE[21,22]、Geant4-DNA[23]、TOPAS-nBio[24]、WLTrack[25]、PHITS[26]等の様々な MC コードが開発されており、数 eV までの低エネルギー電子線における飛跡構造を詳細に解析することが可能である[19]。これらのコードのうち、先行研究[12,13,18,27,28]において DSB 生成率とその複雑さの推定に成功している PHITS の電子線飛跡構造解析モード (*etsmode*) [29,30]および in-house コードである WLTrack[25]を使用して解析した。特に、PHITS は無料のコードであり、ライセンスの取得により誰でも利用可能である。以上より、foci サイズと DSB の複雑さの関係性を 2 つのコードを使用することで明らかにし、あらゆる施設においても complex DSB を定量化することのできる解析手法を開発した。

本研究では、電子線飛跡構造解析コード（WLTrack および PHITS）を使用して、 γ -H2AX foci サイズから DSB の複雑さ（DSB 領域内に追加で生成される鎖切断数）を推定する手法を開発し、様々な X 線スペクトル（診断用 X 線および治療用 X 線）における DSB の複雑さを定量化した。この解析手法により、 γ -H2AX focus 形成法を使用した実験的解析により、電離放射線照射後の初期の生物学的影響のより正確な評価が可能となる。

2.2. 方法

2.2.1. 培養細胞および培養方法

本研究では、増殖が早く放射線生物学に関する細胞実験によく使用されており、細胞核が比較的均一な形状で γ -H2AX foci の画像解析が容易なチャイニーズハムスター肺線維芽細胞 V79-379A (IFO50082, JCRB Cell Bank, Japan) を使用した。V79-379A 細胞は、10% fetal bovine serum (Equitech-Bio Inc, Kerrville, TX, USA) および 1% penicillin/streptomycin (P4333, Sigma, USA) を添加した Minimum Essential Medium Eagle (M4655, Sigma, USA) を培地として使用し、環境気温 37 °C および 5% CO₂ 条件下で培養した。細胞の継代には、リン酸緩衝生理食塩水 (phosphate-buffered saline, PBS) にて細胞を洗浄した後、0.25w/v% Trypsin-1mmol/L EDTA 4Na Solution with Phenol Red (209-16941, Fujifirm Wako, Japan) にて細胞を単離した。培地の添加にて Trypsin の反応を停止させ 1.2 × 10³ rpm で遠心後、上澄みを除去し新たな培地にて作成した細胞懸濁液を培養容器に播種した。培養容器には、φ12-mm ガラスベースディッシュ (3911-035, IWAKI, Japan) を使用した。

2.2.2. 細胞への照射体系

細胞への照射に使用したエネルギースペクトルは、35 kVp, 40 kVp, 50 kVp, 60 kVp, 60 kVp, 80 kVp, 100 kVp, 120 kVp, 150 kVp X 線 (MBR-1520R-4, Hitachi Power Solutions Co., Ibaraki, Japan) および 6 MV-linac (Varian 600 C linear accelerator, Varian Associates, Palo Alto, CA, USA) であった。35 kVp, 40 kVp, 50 kVp, 60 kVp, 60 kVp, 80 kVp, 100 kVp, 120 kVp, 150 kVp X 線の線量率は、固有フィルタ 1.6-mm Be および付加フィルタ 1.0-mmAl の条件下で、それぞれ 0.17 Gy/min, 0.22 Gy/min, 0.36 Gy/min, 0.49 Gy/min, 0.75 Gy/min, 1.02 Gy/min, 1.34 Gy/min and 1.77 Gy/min であった。これらのエネルギーにおいては、細胞の接着面は培養液中深さ 1.0-mm であった。一方、6MV-linac による照射では、X 線入射方向から細胞接着面までの深さが 1-cm, 5-cm, 10-cm となるよう、タフウォーターファントムの厚さを変化させた。タフウォーターファントムの厚さ 1-cm, 5-cm, 10-cm での線量率は、それぞれ 4.91 Gy/min, 4.44 Gy/min and 3.75 Gy/min であっ

た。照射野サイズは $10 \times 10 \text{ cm}^2$ とし、培養皿全体を培養液で満たした状態で照射した。35-150 kVp X 線および 6 MV X 線のいずれの場合でも、室温にて照射した。また、最終継代から 24h 後に、100 %コンフルエントの状態での照射を実施した。全ての X 線エネルギーにおいて、吸収線量は 1 Gy とした。

2.2.3. DNA 二本鎖切断の検出と解析

X 線照射により生成された DSB を検出するため、 γ -H2AX focus 形成法を用いた。照射後 30 分における培養細胞を 4% paraformaldehyde により固定後、0.2% Triton X-100 in PBS にて 5 分間処理し、1% bovine serum albumin (BSA) in PBS にて 30 分間ブロッキングした。一次抗体には 1% BSA in PBS にて 1:400 に希釈した抗 γ -H2AX 抗体 (ab26350, abcam, UK) を使用し、4 °C で一晩処理した。PBS にて 3 度洗浄後、1% BSA in PBS にて 1:250 に希釈した Alexa Fluor 594-conjugated goat-anti-mouse (ab150116, abcam, UK) にて 2 時間処理した。その後、1 $\mu\text{g/ml}$ DAPI (62248, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) にて 15 分間処理した。メタノールで洗浄後、 γ -H2AX foci の画像をオールインワン蛍光顕微鏡 (model BZ-9000; Keyence, Osaka, Japan) にて取得した。このときの励起波長は、 γ -H2AX foci 観測時で 605 nm、DAPI 観測時で 360 nm であった。

γ -H2AX foci 蛍光顕微鏡画像の解析には、ImageJ[31,32]を使用した。まず、細胞核内に $\phi = 5 \mu\text{m}$ の ROI を設置し、ROI 内の γ -H2AX foci 位置から二点間距離を計算した。次に、 γ -H2AX foci 面積を計測した。さらに、細胞核当たりの γ -H2AX foci 数を計測することにより、各 X 線エネルギー照射時の DSB 生成数を取得した。

2.2.4. 細胞核内における γ -H2AX foci の二点間距離計算

γ -H2AX foci 二点間距離は、円内にランダムに発生する点の距離の確率分布を示す理論式（(2-1) 式） [33]との比較を行った。

$$f(x, r) = \frac{4x}{\pi r^2} \cos^{-1} \left(\frac{x}{2r} \right) - \frac{2x^2}{\pi r^3} \sqrt{1 - \frac{x^2}{4r^2}} \quad (2-1)$$

しかし、実測では、蛍光顕微鏡の分解能により、図 2-1 (A)に示されるような隣接する foci を分離して観察できない場合、foci の二点間距離が計測できない。この条件を理論値に反映するため、次に示す理論値の補正を行った。まず、入力データ $f(x, r)$ を使用して、2つの foci 間の距離 x_j をランダムに抽出した。次に、実験データから無作為に抽出された foci 面積を使用して、隣接する2つの foci が重なる foci 間の最小距離 x_{min} を算出した。最後に、 x_j よりも x_{min} が小さい場合、データを破棄することで補正した（図 2-1 (B)）。この補正処理では、foci は円形であると仮定された。

(A) Diagram of the γ -H2AX foci in nucleus

(B) Flow chart for the methods of subtracting the distance data

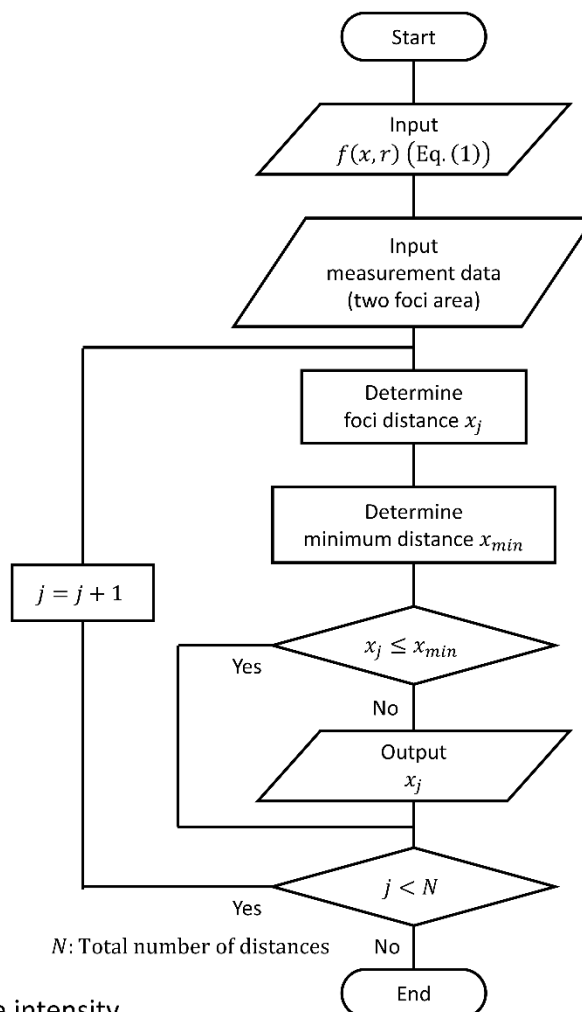
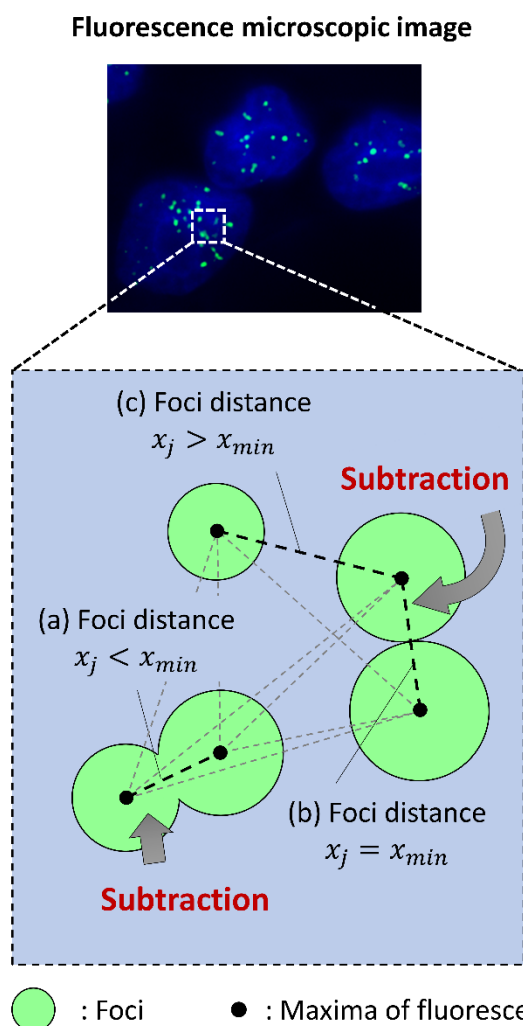


図 2-1 細胞核内 γ -H2AX foci の二点間距離の測定と理論値の補正方法 (A)に細胞核内 γ -H2AX foci の二点間距離の概略図を示す。隣接する foci の距離が小さい場合(a)、foci が分離できず距離の測定ができない。foci が分離でき、距離の測定が可能であるのは foci 同士が十分に離れている場合(c)および foci 同士が接している場合(b)である。この現象を理論値に反映するため、(B)に示す理論値の補正を行った。(a)の場合の二点間距離データを差し引くことにより補正した。

2.2.5. X線照射後に生成される複雑な DNA 損傷生成率の解析

γ -H2AX foci 面積と DSB の複雑さとの関係性を評価するため、WLTrack[25]を使用し二次電子線による電離・励起の局所密度を推定した。WLTrack は、電離や励起によって微小領域内に付与されるエネルギーの計算について良く検証されているため[12]、電離・励起の局所密度の推定に使用した。液相水中への X 線照射時に生成される二次電子線の初期スペクトルは、PHITS (ver. 3.27) [26]に搭載された electron gamma shower (EGS)モード[34]により計算された。計算には[t-product]タリーを使用し、液相水中における X 線の相互作用（光電効果、コンプトン散乱および電子対生成）により生成される電子線のエネルギースペクトルを算出した。計算に使用した X 線スペクトルは Tucker の式[35]により計算された。先行研究[36]と同じサンプリング体積である cube ($5.03 \times 5.03 \times 5.03 \text{ nm}^3$) を電子線飛跡に沿ってランダムに配置し、cube 内の電離・励起イベント数を計数した (図 2-2 (A))。

イベント数 (図 2-2 (A)) と foci 面積 (図 2-2 (B)) が比例関係であると仮定し、両方のデータを指数関数にフィッティングすることにより foci 面積からイベント数への換算係数を決定した。35 kVp X 線の foci 面積頻度分布をイベント数頻度分布に変換し、DSB の複雑さにより分類するためのイベント数の閾値を、後述の PHITS によって計算された複雑な DSB 生成割合と一致するように決定した。イベント数の閾値を、換算係数を用いて foci 面積の閾値へ変換し、各 X 線エネルギーにおける foci 頻度分布から複雑な DSB の生成割合を推定した。この解析により求められた割合と、 γ -H2AX focus 形成法にて計数された DSB 数を使用して、simple または complex DSB の生成数を推定した。

一方、PHITS (ver.3.27) を使用した complex DSB 生成率の解析を行った。PHITS による DNA 損傷解析では、第一原理計算により電子線飛跡構造の詳細（平均自由行程や、相互作用の位置とその種類等）が解析可能である *etsmode*[29,30]を使用した。まず、*etsmode* を使用して二次電子線飛跡に沿って発生する電離・励起位置を解析した。次に、先行研究の DSB 生成率推定モデル[13]を採用し、DSB サイト内 (3.4 nm 以内) に隣接するイベント（電離・励起点）のペア (linkage) の数 (N_{link}) を計数した。DSB 生成率 (Y_{DSB}) は、電子線による付与エネルギー (E_{dep}) に対する linkage 数 (N_{link}) に

比例すると仮定され、(2-4)式により与えられた。

$$Y_{\text{DSB}} = k_{\text{DSB}} \frac{N_{\text{link}}}{E_{\text{dep}}} \quad (2-4)$$

ここで、 k_{DSB} は比例係数 (keV/Gy/Da) であり、220 kVp X 線照射における DSB 生成率の実験値から求められた値を採用した[13]。この DNA 損傷生成率推定モデルによる結果は、他の実験結果やシミュレーション結果とよく一致することが確認されている[13]。本解析では、35-150 kVp X 線および 6MV X 線照射時の DSB 生成率を解析した。X 線の輸送には EGS モード、X 線と液相水との相互作用により発生した二次電子線の輸送には *etsmode* を採用した。X 線照射時の二次電子線スペクトル ($f(E_{\text{dep}})$) と各電子線エネルギーの DSB 生成率 ($Y_*(E_{\text{dep}})$) から、(2-5)式により DSB 生成率を計算した[13]。

$$\bar{Y}_* = \int Y_*(E_{\text{dep}}) f(E_{\text{dep}}) dE_{\text{dep}} \quad (2-5)$$

さらに、PHITS (ver. 3.27) の DSB 生成率推定モデル[18]を用いて、complex DSB 生成率を推定した。先行研究[18]より、DSB サイト内に1つの鎖切断が追加されるために必要なイベント数 (電離・励起数) は12個であると定義されている。よって、DSB サイト (半径 10 bp) のサンプリング球内に含まれるイベント数 (N_{el}) に従い、DSB の複雑さを段階的に分類した (表 2-1)。ここで、損傷の各種類は、1.3.1 章で説明したように、simple DSB は 10 bp 以内において両方の鎖に1つずつ切断があるもの、DSB+ は DSB の両端から 10 bp 以内に追加の鎖切断が1つあるもの、DSB++ は DSB の両端から 10 bp 以内に追加の鎖切断が2つあるものを指す[3]。この推定モデルは AFM を用いた実験値と比較され、推定値の妥当性が良く検証されている[18]。

表 2-1 クラスタあたりのイベント数 (N_{cl}) による複雑な DSB の分類[18]

Type of DSB	Number of events per cluster N_{cl}
simple DSB	$2 \leq N_{cl} < 14$
DSB+	$14 \leq N_{cl} < 26$
DSB++	$26 \leq N_{cl} < 38$

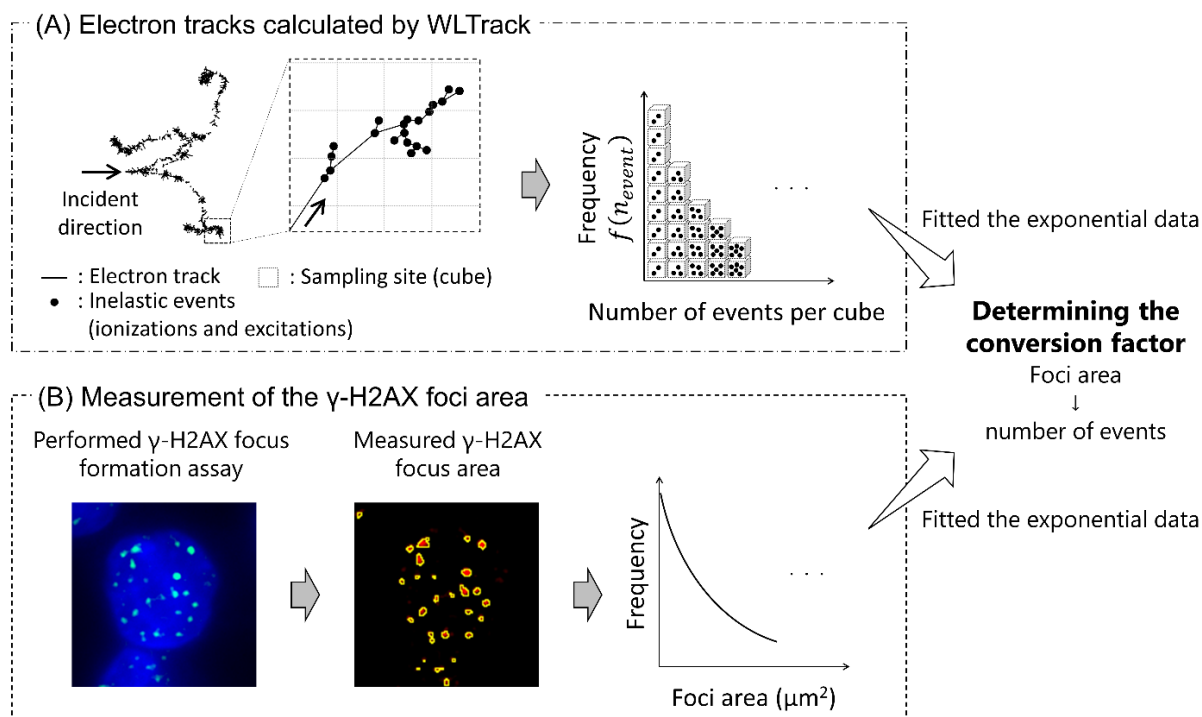


図 2-2 γ -H2AX foci 面積から局所的な電離、励起イベント数への変換係数算出方法 (A) WLTrack を用いて局所的な電離、励起イベント数の解析を行った。電子線飛跡に沿ってサンプリング cube を配置し、その中に発生した電離・励起イベント数を計数し、頻度分布を作成した。(B) γ -H2AX focus 形成法を行い、測定された foci 面積の頻度分布を作成した。これらの頻度分布を指数関数にフィッティングすることにより、foci 面積からイベント数への換算係数を決定した。

2.3. 結果と考察

2.3.1. γ -H2AX foci の解析による DNA 二本鎖切断の空間分布

X線照射により生成される細胞核内 γ -H2AX foci 二点間距離の分布を図 2-3 に示す。この解析での二点間距離は、図 2-3(A)に示す通り、 $\phi = 5.0 \mu\text{m}$ の円内にある foci において解析した結果である。foci 二点間距離分布の傾向は、35-150 kVp X線と 6MV X線とで一致した。また、foci の二点間距離分布は、円内でランダムに発生する二点間距離の理論値と良い一致を示した。この理論値は図 2-1 に示される方法で、隣接する foci の重なりにより分離することのできない距離データを補正したものである。顕微鏡の解像度が十分に高い場合、ナノメートルスケールで foci を区別し、短い二点間距離の頻度が高くなる。しかし、図 2-3(B)では、ナノメートルスケールでの二点間距離分布にピークは確認できなかった。また、理論値との比較により、X線照射時に生成される γ -H2AX foci は細胞核内でランダムに生成されることが示唆された。先行研究においても、光子線照射後の DSB がランダムな空間分布を示しており、今回測定された二点間距離分布の傾向と一致する[37]。この結果から、 γ -H2AX foci の二点間距離は、蛍光顕微鏡の解像度の限界に起因し、複雑な DSB 生成率を反映しないことが明らかとなった。

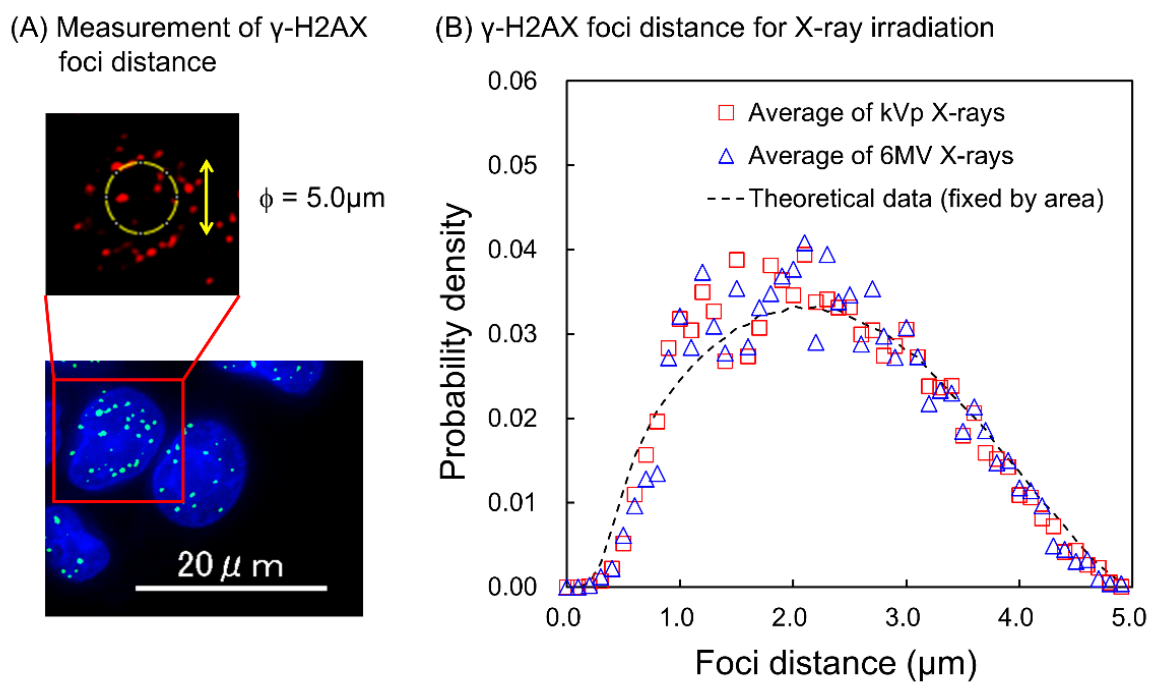


図 2-3 X 線照射時に生成される γ -H2AX foci の二点間距離分布 (A)に γ -H2AX foci 二点間距離の測定の様子を示す。細胞核内に $\phi = 5.0\mu\text{m}$ の円を設定し、円内の foci について二点間距離を測定した。(B)に 35-150 kVp X 線照射時の γ -H2AX foci 二点間距離分布の平均値 (赤、三角) および 6MV X 線照射時の γ -H2AX foci 二点間距離分布の平均値 (青、四角) を示す。2つの分布の傾向は理論値 (破線) とよく一致した。

図 2-3(B)の結果を受け、 γ -H2AX foci 面積に着目し、複雑な DSB の生成率の X 線エネルギー依存性を評価した。X 線照射時に生成される foci 面積の平均値を図 2-4 に示す。Scheffe の F 検定による群間比較では、35 kVp X 線と他の X 線エネルギーでの比較で foci 面積に有意差は見られなかった。この結果は、複雑な DSB 生成率が X 線エネルギーに依存しないことを示唆している。一方、先行研究[12]より、 γ -H2AX foci 数は MV X 線と比較して kVp X 線照射時において多く発生することが明らかとなっている。これは、ほぼすべての DSB が電子線飛跡の末端にて生成され[38]、電子線飛跡の末端がランダムに分布することに起因する。このことにより、電子線飛跡の末端にて電離により生成された二次電子が、DSB 生成率に寄与することが示された。

光子線および電子線は低 LET 放射線として分類されている。Nakajima らや Antonelli らにより、高 LET 放射線 (α 線や重イオン等) では個々の DSB が密接に発生することで、低 LET 放射線と比較して foci 面積が大きくなることが示唆されている[11,17]。これらの報告は、foci 面積の測定が、DNA 損傷の局所密度における LET 依存性の評価に有用であることを示唆している。

複雑な DSB 生成率に X 線エネルギー依存性は確認されなかったが、細胞核内に生成された個々の γ -H2AX foci 面積から複雑さを推定できる可能性が考えられた。したがって、 γ -H2AX foci 面積から DSB の複雑さを推定するため、電子線飛跡構造解析 MC コードによる DNA 損傷の局所密度解析に着手した。

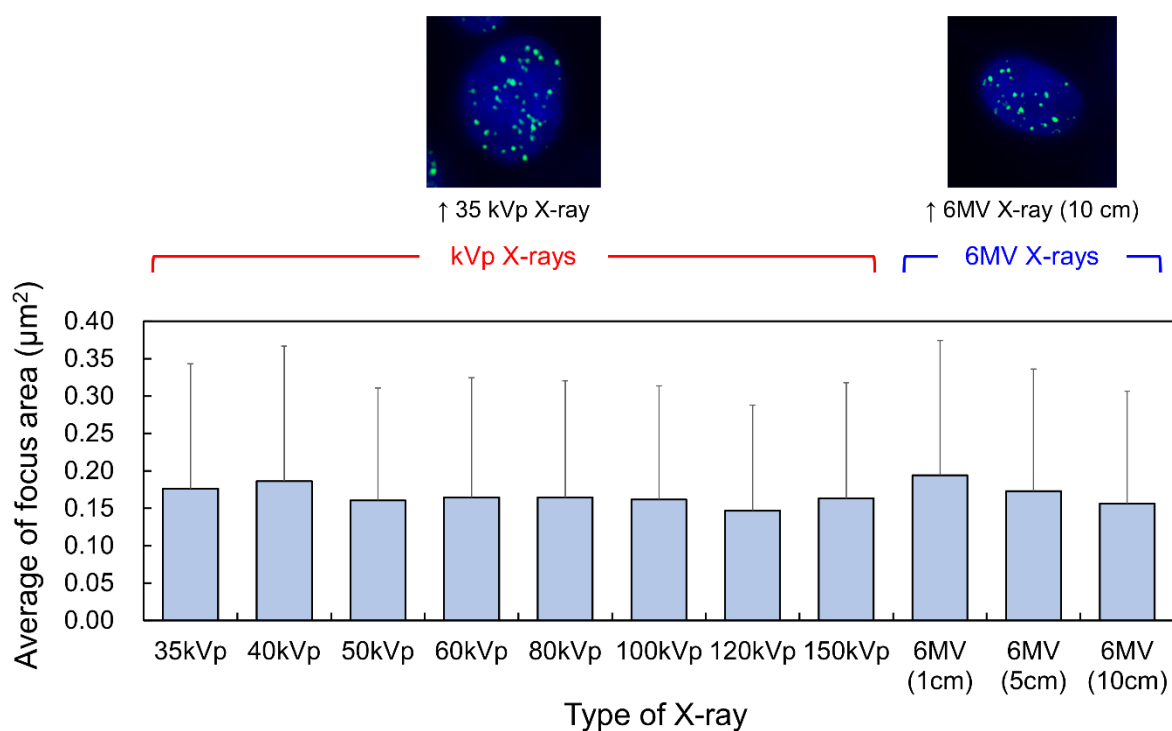


図 2-4 X 線照射時に生成される γ -H2AX foci 面積の平均値 各 X 線エネルギー照射時に生成される γ -H2AX foci 面積の平均値。各 X 線エネルギーにおいて foci 面積の平均値は同様の傾向を示した。統計解析には Scheffe の F 検定を採用した。35 kVp X 線とその他の X 線エネルギーでは、foci 面積の平均値に有意差は確認されなかった。

2.3.2. γ -H2AX foci 面積と局所的な電離・励起数との関係性

γ -H2AX foci 面積と DSB の複雑さの関係性を評価するため、WLTrack による電子線飛跡構造解析を行い、DSB サイト内の電離、励起イベント数を解析した。先行研究 [12,39]において、WLTrack によって計算された microdosimetry の物理量は、組織等価比例計数管 (Tissue equivalent proportional counter, TEPC) による実測値と良く一致することを確認した。そのため、WLTrack によるサンプリング領域内の電離・励起による付与エネルギー解析の妥当性はよく検証されており、サンプリング領域 (cube, $5.03 \times 5.03 \times 5.03 \text{ nm}^3$) 内に生成されたイベント数の推定には WLTrack を採用した。実測した γ -H2AX foci 面積の相対頻度分布と、WLTrack にて計算した cube 当たりのイベント数の相対頻度分布を図 2-5 に示す。2 つの分布は同様の傾向を示しており、これらのデータを接続することにより個々の foci に含まれるイベント数が推定可能であることが示唆された。

γ -H2AX foci 面積とイベント数は比例関係にあると仮定し、foci 面積からイベント数への変換係数を $13.2 (\mu\text{m}^2)$ に決定した。また、この変換係数において誤差伝搬による標準偏差は 0.268 であった。

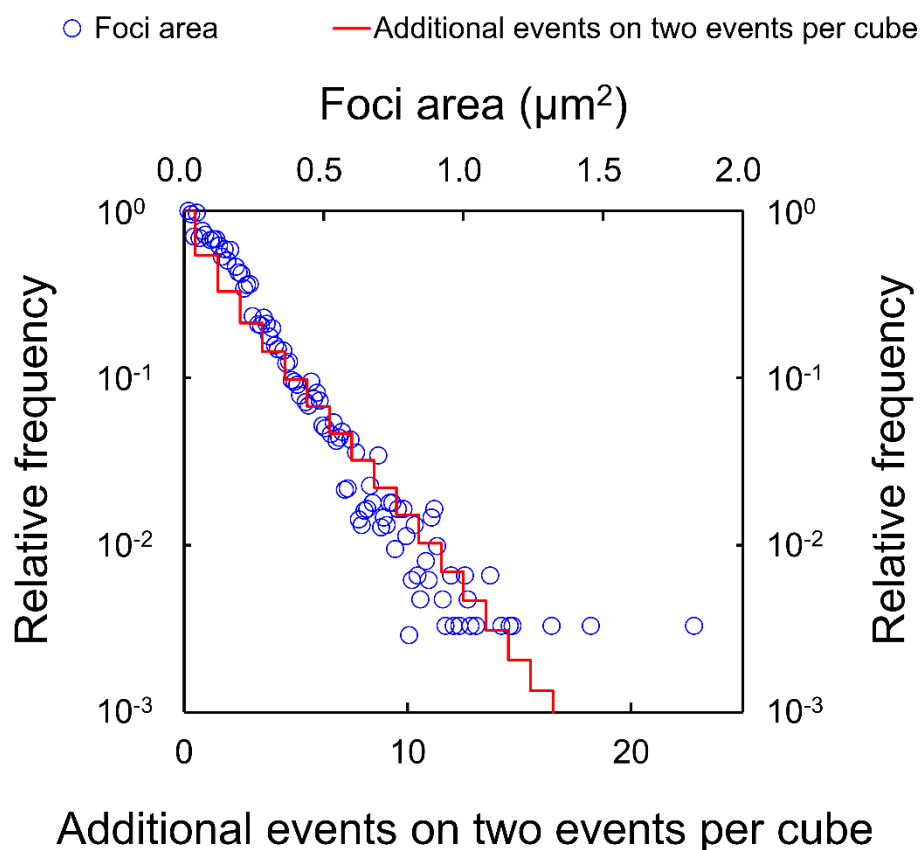


図 2-5 γ -H2AX foci 面積および cube 当たり電離、励起イベント数の相対頻度分布の比較 γ -H2AX foci 面積（実測値）および cube 当たりの電離、励起イベント数（計算値）の相対頻度分布を示す。どちらの分布も 35 kVp X 線照射時のデータである。2つの分布は同様の傾向を示す。これらの分布は最小二乗法により指数関数にフィッティングされ、単位面積当たりに含まれるイベント数が $13.2 (\mu\text{m}^2)$ であることが示唆された。

2.3.3. X線照射時の複雑な DNA 損傷生成率

前述の解析にて決定された変換係数を使用して、イベント数に基づく DSB の複雑さを決定する閾値を、foci 面積に基づく閾値に変換した。この閾値は PHITS コードにより推定された 35 kVp X 線の複雑な DSB 生成割合を再現可能となるよう決定された。foci 面積に基づく閾値を使用して、各 X 線エネルギーの foci 面積分布から simple DSB および complex DSB の生成率を推定した。各 X 線エネルギーにおける simple DSB および complex DSB の生成数を図 2-6 に示す。PHITS (ver. 3.27) による DSB 生成率の計算結果との比較にて、全ての X 線エネルギーにおいて simple DSB および complex DSB の割合は同様の傾向を示した。また、 γ -H2AX foci 形成法により求められた総 DSB 生成率 (simple DSB 生成率および complex DSB 生成率の合計) は PHITS により推定された総 DSB 生成率と正の相関関係を示した ($R^2 = 0.78$)。この結果より、本研究で開発された解析手法が、様々な X 線エネルギーにて適用可能であることが示された。

本研究における PHITS を用いたシミュレーションでは、linkage (3.4 nm 以内に生成される 2 つのイベントのペア) が DSB となる確率は 0.124% であり、DSB の誘発が稀な事象であることを示している。このことから、電子線飛跡に沿って 2 つ以上の DSB が発生する可能性は低く、飛跡の末端で誘発されることによりランダムに分布する。したがって、大きな γ -H2AX foci は simple DSB による γ -H2AX foci が複数積算したものではなく、complex DSB を反映していることを示唆する (図 2-7)。これは、先行研究の報告と一致する[11]。低 LET 放射線により誘発される γ -H2AX foci は多様なサイズを示すため、大きな foci は多数の γ -H2AX を誘発する DSB であることが想定される。このことから、低 LET 放射線の場合、 γ -H2AX foci 形成のメカニズムとして、複雑な DSB 生成時にはより多くの H2AX リン酸化が誘発されることが示唆された。

一方、総 DSB 生成数に着目した場合、35-150 kVp X 線では 6MV X 線と比較して多くなり、生物学的影響が高いことが示された。この傾向は、先行研究で示された傾向と一致する[12,13]。この結果より、X 線照射時の生物学的影響は、DSB の複雑さではなく、総 DSB 生成数により評価する必要がある。

γ -H2AX foci 面積からイベント数への変換係数は、使用する蛍光顕微鏡の解像度等

の影響を受ける可能性があり、今回求められた変換係数は本実験体系においてのみ適用可能である。他の研究者がこの手法で DSB の複雑さを推定する場合は、各々の実験体系に適した変換係数を設定する必要がある。現在、PHITS 等の放射線輸送解析コードが公開されていることから、他の研究者が各々の照射体系に合わせて変換係数を計算することは可能である。

今回の complex DSB 計算結果は、実験のみで DSB の複雑さを評価したデータとの比較はされていない。また、塩基損傷の生成を考慮したクラスター損傷の実測はされていない。今後、DSB と SSB や BD の共焦点を検出する免疫蛍光染色といった[40]、クラスター損傷生成率の実測値との比較が必要である。

さらに、今回の実験では光子線照射のみを扱っている。 α 線や重イオン線といった高 LET 放射線では飛跡の近傍に大量の二次電子線が発生し隣接する γ -H2AX foci が重なるため、光子線等の低 LET 放射線と比較して γ -H2AX foci 面積が大きい[11,17]。今後、低 LET 放射線だけでなく高 LET 放射線にも適応できるよう、データの高精度化が必要である。また、MC シミュレーションによる DSB 生成率の推定では、電子と水分子の衝突反応といった物理過程のみを解析しており、ラジカルの拡散や反応を考慮していない。将来的には、物理過程からラジカルの動態による化学過程を経て、DNA 損傷や細胞死といった生物学的過程の推定が可能となるよう、MC コードの開発が必要である。

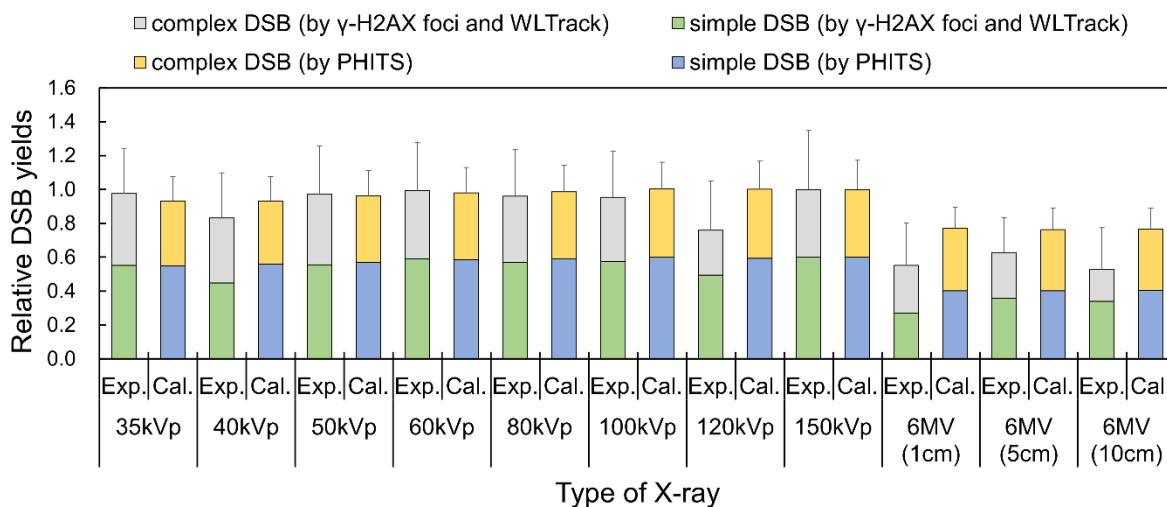


図 2-6 細胞実験およびシミュレーションにより推定された複雑な DSB の割合 細胞実験およびシミュレーションにより求められた simple および complex DSB の生成率を示す。各生成率は、150 kVp X 線を基準とした相対値で表す。細胞実験による実測値およびシミュレーションによる計算値は同様の傾向を示した。

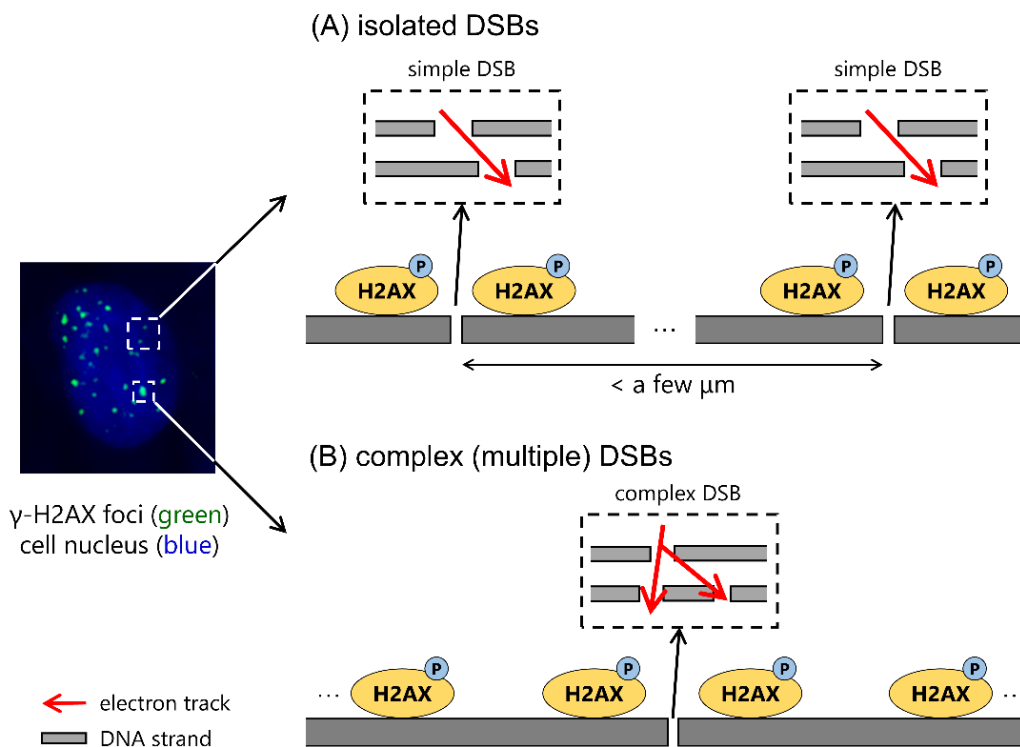


図 2-7 単独の DSB および complex DSB における H2AX リン酸化の概要図 低 LET 放射線の場合、大きい foci は、単独の DSB の重なり(A)ではなく複雑な DSB による広い範囲の H2AX リン酸化(B)を反映する。本研究の解析により、ナノメートルスケールにおける DSB の複雑さが H2AX リン酸化に影響することが示唆された。

2.4. 小括

本研究では、 γ -H2AX focus 形成法と WLTrack によるナノメートルスケールでの電離、励起密度解析に基づいた、複雑な DSB 生成率の解析手法の開発を行った。電離、励起が DNA 鎖切断を誘発する可能性があるとして仮定し、DSB の複雑さを推定するために cube 内のイベント数を計算した。また、cube 内イベント数と foci 面積の関係を評価し、様々な X 線エネルギーにおいて、 γ -H2AX foci 面積から DNA 損傷の複雑さを推定することに成功した。今回の推定結果から、複雑な DSB 生成率の X 線エネルギー依存性は確認されなかったが、細胞核内 DSB 数は X 線エネルギー依存性を示した。本研究で開発された複雑な DNA 損傷の実験的解析手法は、簡便かつ低コストで解析することのできる有用な方法である。現時点では、この解析手法は低 LET 放射線のみならず、将来的には隣接する γ -H2AX foci の重なりを考慮しなければならない高 LET 放射線にも適応させる必要がある。

参考文献

1. Nikjoo, H., Uehara, S. and Emfietzoglou, D. Interaction of photons with matter. In: Nikjoo H, Uehara S, Emfietzoglou D. *Interaction of radiation with matter*. Boca Raton: CRC Press; 89–102 (2012).
2. Joiner, M. C., van der Kogel A. J. and Steel, G. G. Introduction: the significance of radiobiology and radiotherapy for cancer treatment. In: Joiner, M. & van der Kogel, A. J. (eds). *Basic Clinical Radiobiology*. London: Edward Arnold; p. 1-10 (2009).
3. Nikjoo, H., O'Neill, P., Goodhead, D. T. and Terrissol, M. Computational modelling of low-energy electron-induced DNA damage by early physical and chemical events. *Int. J. Radiat. Biol.* **71**: 467-483 (1997).
4. Ballarini, F., Altieri, S., Bortolussi, S., Carante, M., Giroletti, E. and Protti, N. The BIANCA model/code of radiation-induced cell death: application to human cells exposed to different radiation types. *Radiat. Environ. Biophys.* **53**: 525-533 (2014).
5. Matsuya, Y. et al. Intensity Modulated Radiation Fields Induce Protective Effects and Reduce Importance of Dose-Rate Effects. *Sci. Rep.* **9**: 9483 (2019).
6. Hufnagl, A., Herr, L., Friedrich, T., Durante, M., Taucher-Scholz, G. and Scholz, M. The link between cell-cycle dependent radi-osensitivity and repair pathways: a model based on the local, sister-chromatid conformation dependent switch between NHEJ and HR. *DNA Repair* **27**: 28-39 (2015).
7. Ward, J. F. DNA Damage Produced by Ionizing Radiation in Mammalian Cells: Identities, Mechanisms of Formation, and Reparability. *Prog. Nucleic. Acid. Res.* **35**: 95-125 (1988).
8. Rogakou, E. P., Boon, C., Redon, C. and Bonner, W. M. Megabase chromatin domains involved in DNA double-strand breaks in vivo. *J. Cell Biol.* **146**(5): 905-916 (1999).
9. Sedelnikova, O. A., Rogakou, E. P., Panyutin, I. G. and Bonner, W. M. Quantitative detection of ¹²⁵IU-induced DNA double-strand breaks with γ -H2AX antibody. *Radiat. Res.* **158**: 486-492 (2002).
10. Leatherbarrow, E. L., Harper, J. V., Cucinotta, F. A. and O'Neill, P. Induction and quantification of γ -H2AX foci following low and high LET-irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* **82**: 111-118 (2006).
11. Nakajima, N. I. et al. Visualisation of γ H2AX foci caused by heavy ion particle traversal; distinction between core track versus non-track damage. *PLoS One* **8**(8): e70107 (2013).
12. Yachi, Y. et al. Track Structure Study for Energy Dependency of Electrons and X-rays on DNA Double-Strand Break Induction. *Sci Rep.* **9**:17649 (2019).
13. Matsuya, Y. et al. Modeling of yield estimation for DNA strand breaks based on Monte Carlo simulations of electron track structure in liquid water. *J. Appl. Phys.* **126**: 124701 (2019).
14. Rube, C. E., Lorat, Y., Schuler, N., Schanz, S., Wennemuth and G., Rube, C. DNA repair in the context of chromatin: new molecular insights by the nanoscale detection of DNA repair complexes using transmission electron microscopy. *DNA Repair* **10**(4): 427-437 (2011).
15. Xu, X. et al. Direct observation of damage clustering in irradiated DNA with atomic force microscopy. *Nucleic Acids Res.* **48**(3): e18 (2020).
16. Nakano, T. et al. Formation of clustered DNA damage in vivo upon irradiation with ionizing radiation: Visualization and analysis with atomic force microscopy. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **119**: e2119132119 (2022).
17. Antonelli, F. et al. Induction and Repair of DNA DSB as Revealed by H2AX Phosphorylation Foci in Human Fibroblasts Exposed to Low- and High-LET Radiation: Relationship with Early and Delayed Reproductive Cell Death. *Radiat. Res.* **183**: 417-431 (2015).
18. Matsuya, Y. et al. A simplified cluster analysis of electron track structure for estimating complex DNA damage yields. *Int. J. Mol. Sci.* **21**: 1701 (2020).
19. Chatzipapas, K. P. et al. Ionizing Radiation and Complex DNA Damage: Quantifying the Radiobiological Damage Using Monte Carlo Simulations. *Cancers* **12**(4): 799 (2020).
20. Nikjoo, H. et al. Radiation track, DNA damage and response-a review. *Rep. Prog. Phys.* **79**(11): 116601 (2016).
21. Salvat, F. PENELOPE-2018: A code system for Monte Carlo simulation of electron and photon transport. NEA/MBDAV/R(2019)1. ISBN: 9789264489950 (2019).
22. Sempau, J., Acosta, E., Baro, J., Fernández-Varea, J. M. & Salvat, F. An algorithm for Monte Carlo simulation of coupled electronphoton transport. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B* **132**(3): 377–390 (1997).
23. Incerti, S. et al. The Geant4-DNA project. *Int. J. Model. Simul. Sci. Comput.* **1**(2): 157–178 (2010).
24. Schuemann, J. et al. TOPAS-nBio: An extension to the TOPAS simulation toolkit for cellular and sub-cellular radiobiology. *Radiat. Res.* **191**(2): 125–138 (2019).
25. Date, H., Sutherland, K. L., Hasegawa, H. and Shimozuma, M. Ionization and excitation collision processes of electrons in liquid water. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B* **265**: 515-520 (2007).
26. Sato, T. et al. Features of particle and heavy ion transport code system (PHITS) version 3.02. *J. Nucl. Sci. Technol.* **55**: 684-690 (2018).
27. Yoshii, Y., Sasaki, K., Matsuya, Y. and Date, H. Cluster analysis for the probability of DSB site induced by

- electron tracks. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B* **350**: 55-59 (2015).
28. Matsuya, Y., Kai, T., Parisi, A., Yoshii, Y. and Sato, T. Application of a simple DNA damage model developed for electrons to proton irradiation. *Phys. Med. Biol.* **67**: 215017 (2022).
 29. Kai, T., Yokoya, A., Ukai, M., and Watanabe, R., Cross sections, stopping powers, and energy loss rates for rotational and phonon excitation processes in liquid water by electron impact. *Radiat. Phys. Chem.* **108**, 13–17 (2015).
 30. Kai, T., Yokoya, A., Ukai, M., Fujii, K., and Watanabe, R. Thermal equilibrium and prehydration processes of electrons injected into liquid water calculated by dynamic Monte Carlo method. *Radiat. Phys. Chem.* **115**, 1–5 (2015).
 31. Rasband, W.S., ImageJ, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, 1997–2007. Available online: <https://rsb.info.nih.gov/ij/> (accessed on 18 February 2021).
 32. Abramoff, M.D., Magelhaes, P.J. and Ram, S.J. Image Processing with ImageJ. *Biophot. Int.* **11**(7): 36-42 (2004).
 33. Solomon, H. Random Chords in the Circle and the Sphere. In: Solomon, H. Geometric Probability. Philadelphia: Society for Industrial and Applied Mathematics; p. 127-172 (1978).
 34. Hirayama, H., Namito, Y., Bielajew, A. F., Wilderman, S. J., and Nelson, W. R. The EGS5 code system. SLAC Report 730, prepared for the Department of Energy, USA (2005).
 35. Tucker, D. M., Barnes, G. T., Chakraborty, D. P. Semiempirical model for generating tungsten target x-ray spectra. *Med Phys.* **18**(2): 211-218 (1991).
 36. Garty, G. et al. A nanodosimetric model of radiation-induced clustered DNA damage yields. *Phys. Med. Biol.* **55**(3): 761-781 (2010).
 37. Löbrich M, Cooper PK, Rydberg B. Non-random distribution of DNA double-strand breaks induced by particle irradiation. *Int J Radiat Biol.* **70**(5): 493-503 (1996).
 38. Yachi, Y., Kai, T., Matsuya, Y., Hirata, Y., Yoshii, Y. and Date, H. Impact of the Lorentz force on electron track structure and early DNA damage yields in magnetic resonance-guided radiotherapy. *Sci. Rep.* **12**: 16412 (2022).
 39. Matsuya, Y. et al. Intensity Modulated Radiation Fields Induce Protective Effects and Reduce Importance of Dose-Rate Effects. *Sci. Rep.* **9**: 9483 (2019).
 40. Nikitaki, Z. et al. Measurement of complex DNA damage induction and repair in human cellular systems after exposure to ionizing radiations of varying linear energy transfer (LET). *Free Radic Res.* 2016, 50, S64-S78.

第3章

MRI 融合放射線治療における電子線飛跡構造および DNA 損傷生成率に対する磁場の影響評価

3.1. 緒言

近年、MRI を融合した画像誘導放射線治療（MR-guided Radiotherapy, MRgRT）が開発されている。この治療法では、従来の X 線、CT を用いた画像誘導治療と比較し、軟部組織の描写に優れ、高コントラストのリアルタイムイメージングが可能である[1-3]。MRgRT を可能とする治療システムは複数開発されており、主なシステムには、ユトレヒト大学にて開発された Electa 社製 6MV X 線リニアックと Philips 社製 1.5 T MRI の融合型装置（MR-Linac）[1-3]や、ViewRay 社にて開発された ^{60}Co 線源による照射装置と 0.35 T MRI との融合型装置[4]が挙げられる（図 3-1）。これらの装置で発生する光子線（X 線、 γ 線）は磁場の影響を受けないが、生体組織中で生成される二次電子はローレンツ力を受けて回転する。この現象は、electron return effect（ERE）と呼ばれる[5]。これまで、磁界下における放射線照射についての生物学的影響が複数の実験により評価されてきたが、磁場がもたらす影響の有無について統一した見解が得られていない。同一線量照射時に誘発される染色体異常や細胞死について磁場の影響を示唆する実験結果が報告されているが[6-9]、複数の実験において、X 線照射時の放射線感受性について磁場の影響は確認されていない[10-12]。

放射線照射後の生物学的影響に対する磁場の影響を評価するには、電子線飛跡解析 MC コードを使用した解析が有用であると考えられる。現在まで、電子線飛跡解析 MC コードは複数開発されている[13-15]。MC コードを用いた磁界下における電子線飛跡解析は、PENELOPE[16,17]や Geant4-DNA[18]、TOPAS-nBio[19]といった様々なコードで行われてきた[20,21]。これらの MC コードでは、ナノおよびマイクロスケールでの

微視的な線量付与解析が行われ、これらは磁場の効果を受けないことが確認された [20,21]。しかし、複雑な DSB 等、様々な種類の DSB 生成率の解析は未だ報告されていない。よって、磁場による DNA 損傷生成のメカニズムを解明するためには、MC コードを用いた第一原理計算による DNA 損傷の推定が重要である。

これらの背景より、汎用の粒子線飛跡解析 MC コードである PHITS (Particle and Heavy Ion Transport code System) [22]を用いて、磁界下での電子線照射時に誘発される DNA 損傷生成率解析を行った。PHITS には、液相水中における 10^{-3} eV までの低エネルギー電子線飛跡構造を解析可能な電子線飛跡解析モード (*etsmode*) [23,24]が実装されており、電子と水分子の相互作用の空間分布から DNA 損傷生成率が解析可能である [25,26]。本研究では、磁界下における電子線飛跡の物理量 (電子線飛跡長や線量分布、microdosimetry [27]の物理量である線量平均線エネルギー y_D) や初期の DNA 損傷生成率を、物理過程に基づいたシミュレーションにより解析した。

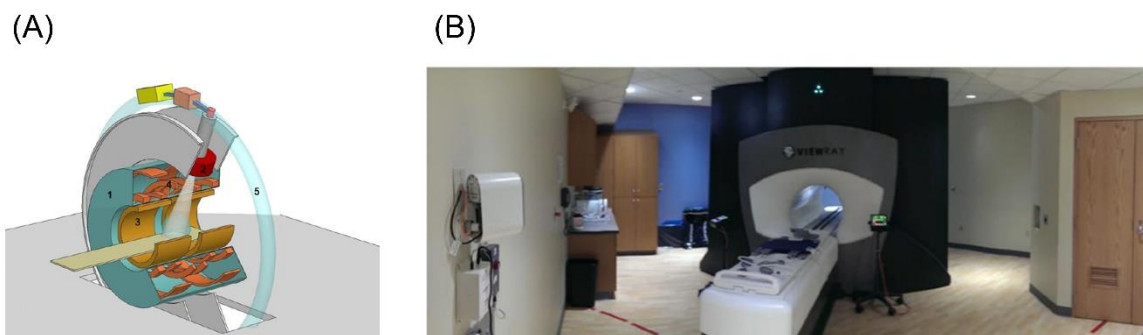


図 3-1 (A)に Electra 社製 6MV X 線リニアックと Philips 社製 1.5 T MRI の融合装置 (MR-Linac) の概要図を示す [3]。 (B)に ViewRay 社製の ^{60}Co 線源による照射装置と 0.35 T MRI との融合型装置を示す [4]。

3.2. 方法

3.2.1. 磁界下における電子線飛跡解析 Monte Carlo コードの設定

磁界下における電子線飛跡解析にあたり、汎用の粒子線飛跡解析コードである PHITS (ver. 3.27) [22]を採用した。PHITS を使用した解析では、電子と液相水中の分子間の相互作用を step-by-step にて解析し、弾性散乱、電離、励起、解離性電子付着、振動励起、回転励起、フォノン励起といった様々な相互作用を解析することで、 10^{-3}

MRI 融合放射線治療における電子線飛跡構造および DNA 損傷生成率に対する磁場の影響評価

eV までの低エネルギー電子線の輸送が可能である *etsmode*[26,28]を使用した。PHITS による磁界下における電子線飛跡解析では、指定した領域内に磁場を設定する機能である[magnetic field] セクションを使用した。

3.2.2. 電子線飛跡構造解析による物理量計算

平行磁場下の 10 MeV 電子線の x 軸方向および y 軸方向の線量分布、垂直磁場下の 1 MeV 電子線の x 軸方向および z 軸方向の線量分布を、*etsmode* および electron gamma shower mode (EGS モード) [29]により計算した。EGS モードは PHITS 内の既存モデルであり、1.4.章で説明した condensed-history physics model (連続的にエネルギー付与を解析するモデル) を採用しており、1.0 keV 以上の電子線を解析可能である。また、2 種類の飛程 (penetration length および射影飛程 (projected range)) についても 2 つのモードを用いて計算された。ここで、penetration length は電子線の初期位置から終端までの距離 (penetration length) 、射影飛程は初期位置から軸に投影された終端までの距離を示す。これらの飛程の解析では、磁束密度 $B = 0.0-10.0$ T における 100-1000 keV 電子線を対象とした。*etsmode* による計算結果を EGS モードによる計算結果と比較することにより、計算結果の妥当性を確認した。

磁界下における電子線照射の線量平均線エネルギー y_D の推定では、先行研究にて y_D 値の推定結果が良く検証された WLTrack を採用した。電子線と液相水との相互作用間の飛跡構造を模擬する際に発生するローレンツ力を考慮することにより、WLTrack への磁場効果の実装を行った。各相互作用においてローレンツ力を(3-2)式により算出した。

$$\mathbf{F} = e\mathbf{v} \times \mathbf{B} \quad (3-2)$$

ここで、 e は電気素量 (1.602×10^{-19} C) 、 v は電子の速度ベクトル (m/s) 、 B は磁束密度 (T) を表す。磁場の効果を実装後、次の手順により y_D 値を算出した。

(i) WLTrack を用いて、電子線飛跡に沿って付与エネルギー ε を採取 (図 3-2)

(ii) 線エネルギー y および線量平均線エネルギー y_D を(1-4)-(1-7)式により計算

y_D 値の計算は、1.0 keV、10 keV、100 keV、1000 keV 電子線にて、磁束密度 $B=0.0$ -10.0 T の範囲で計算された。線量分布、飛程、 y_D 値は、不確実性が数%未満となるよう、十分な電子数にて計算した。

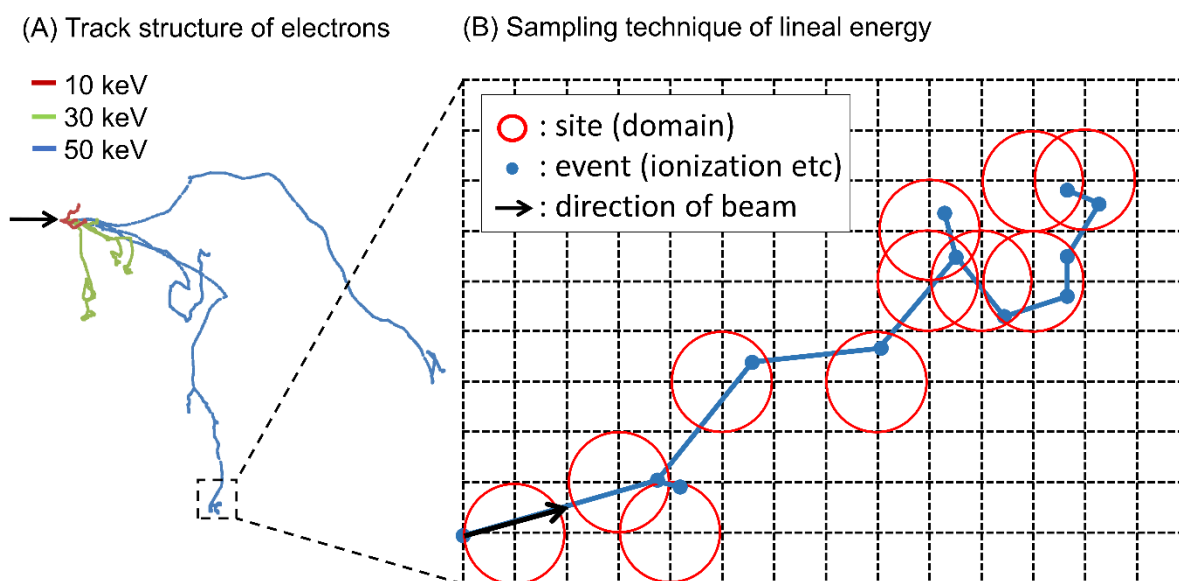


図 3-2 電子線による付与エネルギーの採取方法の概要図。(A)に WLTrack によって模擬された 10 keV, 30 keV, 50 keV 電子線飛跡を示す。(B)に付与エネルギーの採取方法を示す。 y_D 値を計算するため、(1) 電子線飛跡に沿って格子状にサンプリング球を配置した。そして、(2) 各サンプリング球の付与エネルギーを解析した。サンプリング球の直径は格子サイズの 2 倍の値と等しく、1 μm に設定した[30]。

さらに、電子と液相水との相互作用を考慮せず、磁場の影響のみによって変化した電子線飛跡を確認するため、真空中における磁界下の電子線飛跡構造を解析した。この解析では、相互作用間のステップで飛跡構造を解析する PHITS は使用できないため、微小時間間隔 (1 アト秒) にて経時的に飛跡構造を解析することが可能な dynamic Monte Carlo code (DMCC) [23,24] を使用した。DMCC の電子線挙動解析モデルは *etsmode* に実装されており、DMCC を用いた検証により、*etsmode* を使用した飛跡構造解析結果に対する考察を行った。DMCC による解析では、磁界下にて電子線が 1 周する時間 (回転時間) および半径 (回転半径) を計算した。この解析では、0.01-1000 keV 電子線を対象として磁束密度 $B = 1.5-10.0$ T の範囲で計算した。

3.2.3. DNA 損傷生成率の推定モデル

磁界下における電子線照射の DNA 損傷生成率を推定するため、PHITS (ver. 3.27) に実装されている DNA 損傷生成率推定モデルを使用した。このモデルは 2.2.5.章で説明したモデルと同一であり、空間内に DNA 二重らせん構造がランダムに分布すると仮定し、*etsmode* で解析した非弾性散乱 (電離、励起) イベントの空間分布から DNA 損傷生成率を推定する。二次電子の DSB 損傷率への寄与を評価するため、二次電子およびオージェ電子による損傷を考慮しない場合の Y_{DSB} も算出した。

また、2.2.5.章のモデルを使用して、complex DSB 生成率の解析を行った。クラスター当たりの電離、励起イベント数 (N_{cl}) に応じて、表 2-1 に従い損傷の複雑さを段階的に分類した。

3.3. 結果と考察

3.3.1. 磁界下における電子線の線量分布

ここで、平行磁場印加時の 10 MeV 電子線の飛跡の様子を図 3-3 (A), (B), (C)に示す。平行磁場によるローレンツ力で電子がスピンしながら進むことにより、磁束密度が大きくなるほど電子線飛跡の広がりが小さくなる。一方、垂直磁場印加時の 1 MeV 電子線の飛跡を図 3-3 (D), (E), (F)に示す。垂直磁場では、ローレンツ力により進行方向と垂直方向に電子がドリフトし、磁束密度が大きくなるほど電子線入射位置に戻るような電子線飛跡となる。

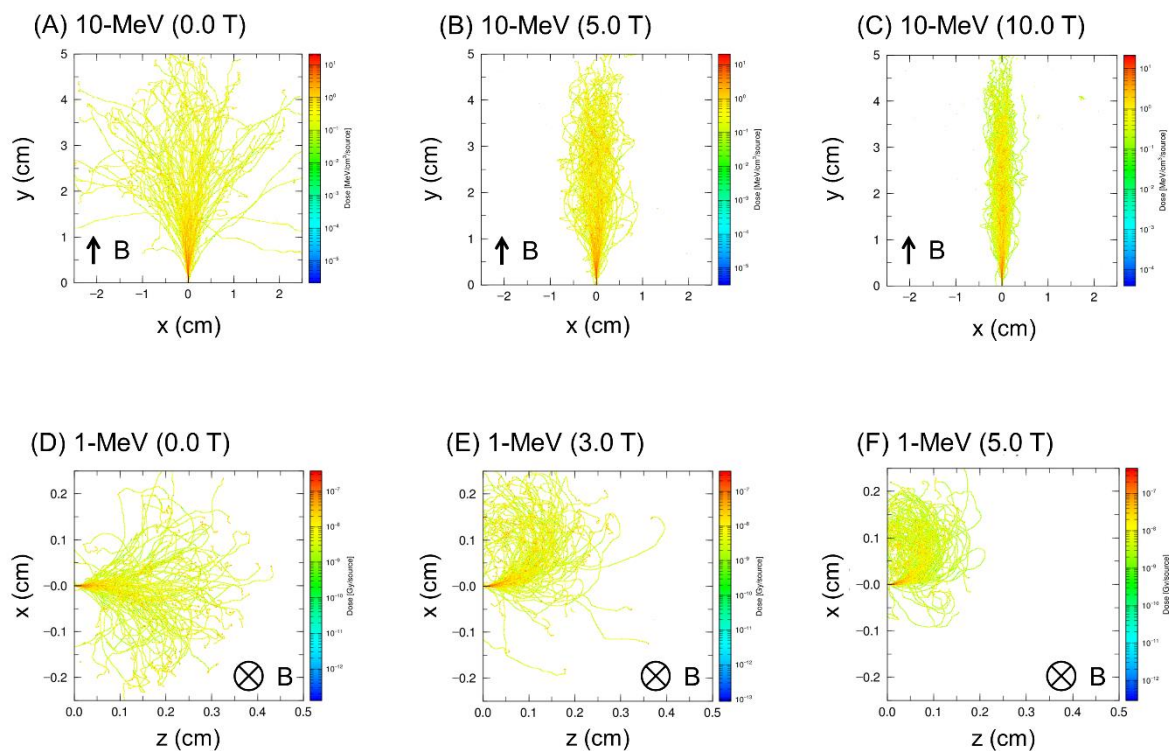
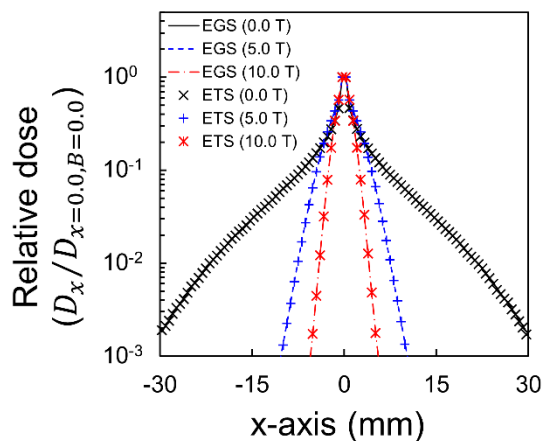


図 3-3 平行磁場および垂直磁場印加時の電子線飛跡構造 EGS モードにより計算された磁界下における電子線飛跡構造を示す。電子線エネルギーは、(A), (B), (C)では 10 MeV、(D), (E), (F)では 1 MeV とした。(A), (B), (C)では平行磁場が印加され、磁束密度はそれぞれ 0.0 T, 5.0 T, 10.0 T とした。(D), (E), (F)では垂直磁場が印加され、磁束密度はそれぞれ 0.0 T, 3.0 T, 5.0 T とした。

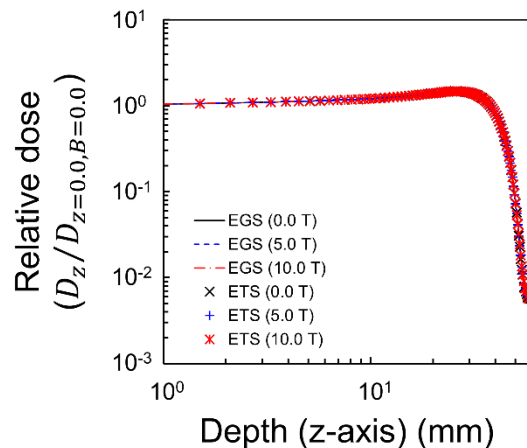
etsmode および EGS モードにより計算された、平行磁場および垂直磁場印加時の電子線の線量分布を図 3-4 に示す。平行磁場における線量分布は、ローレンツ力による電子線のスピンの (図 3-3 (A), (B), (C)) に示される通り、電子線の進行方向と垂直な方向では分布が狭くなった (図 3-4(A)) が、電子線の進行方向 (深さ方向) の分布は変化しなかった (図 3-4 (B))。一方、垂直磁場における線量分布では、ローレンツ力による電子線のドリフト (図 3-3 (D), (E), (F)) に示される通り、非磁界下 ($B = 0.0 \text{ T}$) にて $x=0$ を中心に対称的な分布であるのに対し、磁界下では電子線の進行方向と垂直な方向で分布に偏りが発生した (図 3-4(C))。また、電子線の深さ方向での分布は、浅部における分布が増加した (図 3-4(D))。全ての線量分布において、*etsmode* と EGS モードの計算結果は良い一致を示した。

既存の電子線輸送コードである EGS モードを使用した線量分布の計算値は、先行研究において 10-MeV 電子線の線量分布において実験値と良く一致することが確認されており [31]、EGS モードによる線量分布計算の妥当性は良く検証されている。したがって、*etsmode* による線量分布の計算値についても、EGS モードとよく一致することから妥当であることが示された。この結果より、放射線治療に用いられる電子線エネルギー (1-MeV および 10-MeV 電子線) が、磁場の影響を大いに受けることが示された。しかし、図 3-5 より、低エネルギー電子線の線量分布が磁場の影響を受けないことが確認された。電子線エネルギーと磁場の関係を詳細に調査するため、次章では電子線飛程に着目した解析を行った。

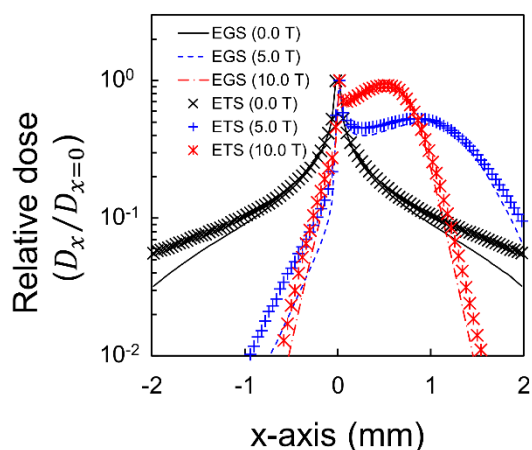
(A) Dose distribution of x-axis
(Parallel to SMF)
(Electron energy: 10 MeV)



(B) Dose distribution of y-axis
(Parallel to SMF)
(Electron energy: 10 MeV)



(D) Dose distribution of x-axis
(Perpendicular to SMF)
(Electron energy: 1 MeV)



(E) Dose distribution of z-axis
(Perpendicular to SMF)
(Electron energy: 1 MeV)

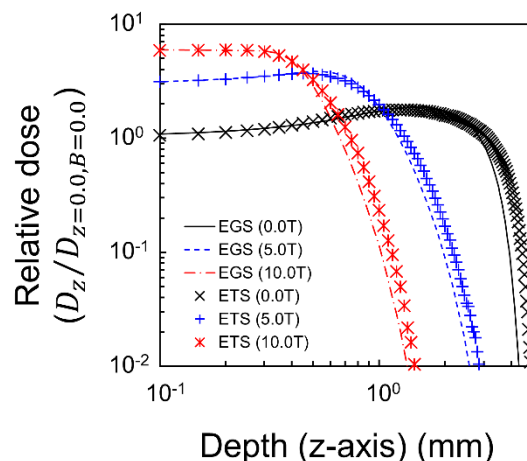


図 3-4 磁界下における電子線の線量分布 *etsmode* および EGS モードにより計算された磁界下における電子線の線量分布。平行磁場印加時の進行方向に対して垂直方向の線量分布 (A)と深さ方向の線量分布(B)、および垂直磁場印加時の進行方向に対して垂直方向の線量分布(C)と深さ方向の線量分布(D)。etsmode によって計算された分布は EGS モードによって計算された分布と良い一致を示した。10 MeV および 1 MeV 電子線の線量分布は、磁場の影響を受けることが確認された。

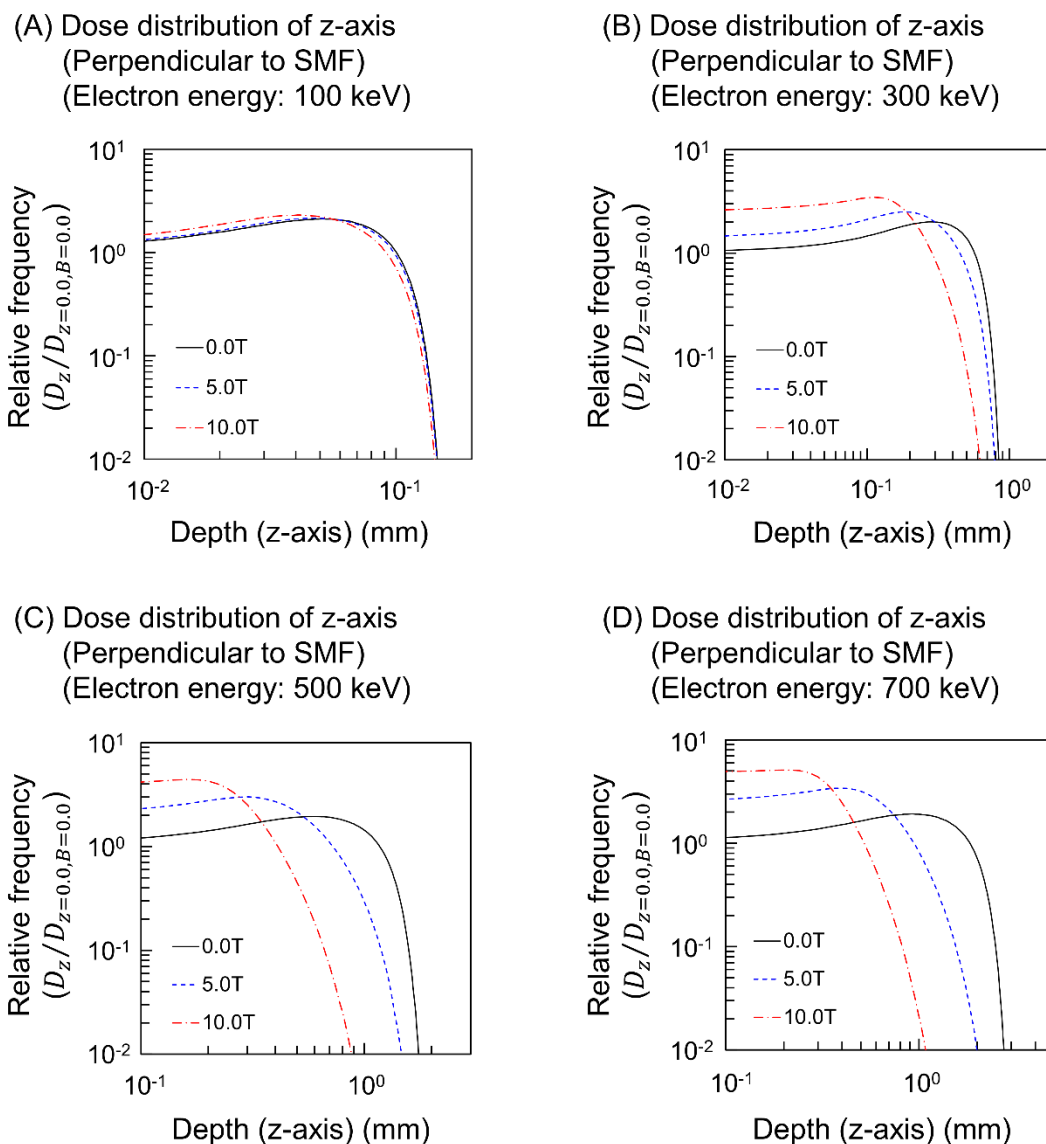


図 3-5 磁界下における 1-MeV 以下の電子線エネルギーの線量分布 垂直磁場下における 1-MeV 以下 (100-700 keV) の電子線の深さ方向 (z 軸方向) の線量分布を示す。これらの線量分布は EGS モードにより計算された。磁束密度 $B = 10.0$ T 以下では、電子線エネルギーが低くなると、磁場の影響が小さくなり、100 keV 電子線では線量分布はほぼ変化しないことが示唆された。

3.3.2. 磁界下における電子線飛程

図 3-6 に磁界下における電子線の入射エネルギーと飛程の関係性を示す。*etsmode* における計算結果の妥当性を確認するため、*etsmode* にて計算された電子線飛程は EGS モードによる計算結果と比較した。*etsmode* を使用した非磁界下における電子線飛程の計算値は、先行研究において ICRU レポートにて報告されているデータや実測値と良く一致することが確認されている[26]。また、図 3-6(A)にて他のシミュレーションコード (Geant4-DNA) による計算結果[32]と良く一致することが示された。図 3-6(B)では、磁界下における射影飛程について、*etsmode* による計算結果と EGS モードによる計算結果がよく一致することが示され、磁界下における電子線飛程の計算においても *etsmode* の妥当性を確認した。*etsmode* の計算結果と EGS モードの計算結果における差異は、各モードで採用している物理モデル (EGS モードでは condensed-history method、*etsmode* では第一原理計算による素過程の詳細な解析モデルを採用) が異なるためであると考えられる。PHITS に搭載されている放射線飛跡解析コードは、実測値との比較することにより、更なる高精度化へ向けた検討が必要である。

非磁界下 ($B = 0.0 \text{ T}$) における単色電子線飛程の計算結果 (図 3-6(A)) では、磁場の効果があると考えられる高エネルギー電子線 (50-1000 keV) での飛程を示す。また、磁束密度と射影飛程との関係を示す図 3-6(B)においても、同様の理由から 100-1000 keV 電子線の計算結果を示す。図 3-6(B)より、100 keV 電子線の射影飛程に磁場の影響は見られなかった。一方、300keV 以上のエネルギーを持つ電子線では、3.0 T 以上の磁束密度になると射影飛程の短縮が明確に現れる。これらの結果は、深さ方向 (図 3-4 における z 軸方向) に沿った電子線の飛行距離が磁場によるローレンツ力により短縮されることで、巨視的な線量分布の変化 (図 3-4(D)) および射影飛程の短縮 (図 3-6(B)) が引き起こされることを示唆している。

放射線治療に用いられる高エネルギー電子線では、磁界下における線量分布が非磁界下の線量分布と比較して、入射位置の近傍で局所的にエネルギーを付与することが示された (図 3-4(D))。このことから、液相水中の電子線飛跡が磁場の影響を受けて湾曲する効果 (ERE) が電子エネルギーに大きく依存することが確認された[20]。また、これらの結果より、治療計画を立案する際、磁場の影響を考慮して腫瘍および正

常組織内の線量分布を計算する必要があることが確認された[2]。

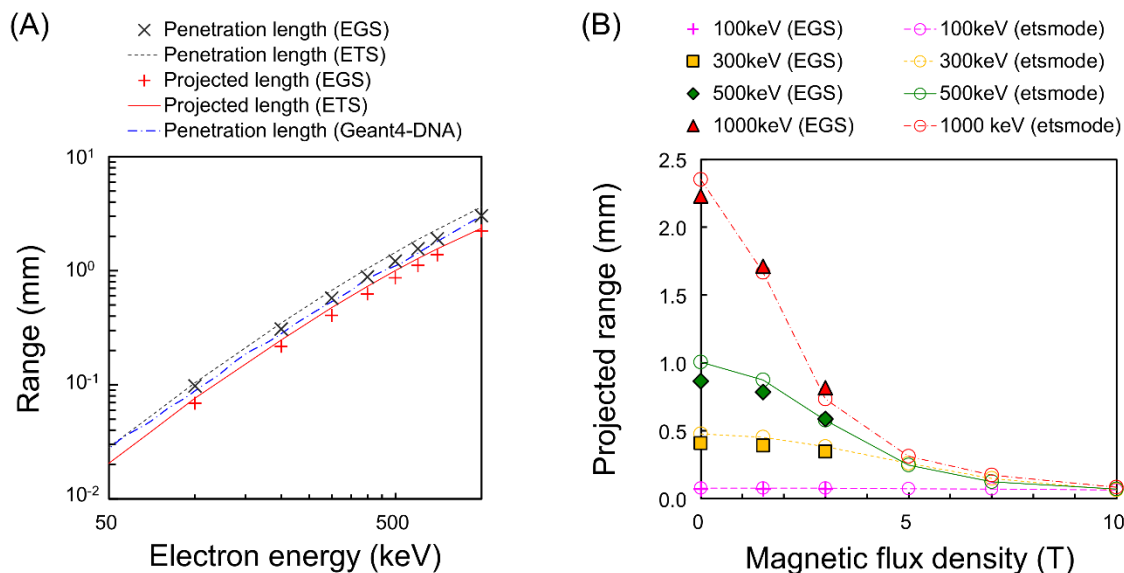


図 3-6 *etsmode* および EGS モードにより計算された磁界下における電子線飛程 (A)に非磁界下における penetration length および射影飛程を、(B)に磁界下 ($B = 0.0-10.0$ T)における射影飛程を示す。*etsmode* および EGS モードでの計算結果は互いによく一致し、他のシミュレーションコードである Geant4-DNA での計算結果[32]ともよい一致を示した。(B)より、射影飛程は電子線エネルギーの高い場合に磁場の影響をより大きく受ける。

3.3.3. 真空中における磁界下での電子線挙動

電子が水分子との相互作用により散乱された場合を考慮せず、磁場の効果のみを考慮した場合の電子線飛跡の湾曲について評価するため、真空中における電子線の回転時間および回転半径を磁束密度 $B=0.0-10.0\text{ T}$ について解析した。この解析には DMCC を使用した。図 3-7(A)に、電子線エネルギーと回転時間または回転半径の関係を示す。回転時間は約 100 keV 以下の電子線エネルギーでは一定であり、100 keV を超える電子線エネルギーでは指数関数的に増加する。回転半径は 0.01-1000 keV の電子線エネルギーにて指数関数的に増加する。先行研究[20]では、磁界下における真空中の電子線飛跡 (0.001-100 MeV) の回転半径と continuous slowing down approximation (CSDA) 飛程が比較された。その結果では、磁束密度 $B = 10.0\text{ T}$ 以下の場合、100 keV 以上の電子線エネルギーで CSDA 飛程が回転半径よりも大きくなり、磁場による影響を受けることを示す。一方、本研究の解析では、真空中における低エネルギー電子線の回転時間および回転半径を示した (図 3-7(A))。数百 keV 以下の低エネルギー電子線が、液相水中で停止するまでの飛行時間および飛行距離は、真空中での回転時間および回転半径と比較して小さい。この関係から、数百 keV 以下の電子は、磁場により湾曲される前 (数十 psec 以内) に減速することが明らかとなった。

図 3-7(B)では、真空中における回転半径 ($B = 3.0\text{ T}$) と液相水中における射影飛程 ($B=0.0, 3.0\text{ T}$) とを比較した。高エネルギー電子線 (100-1000 keV) では、電子線エネルギーの増加とともに、射影飛程の値が回転半径の値に近づく。低エネルギー電子線 (0.01-90 keV) では、射影飛程と比較して回転半径が十分に大きくなる。したがって、高エネルギー電子線の飛跡は磁場により湾曲される。図 3-7 より、電子線エネルギーが数百 keV 以上の場合、磁場の影響を大きく受けることが確認された。

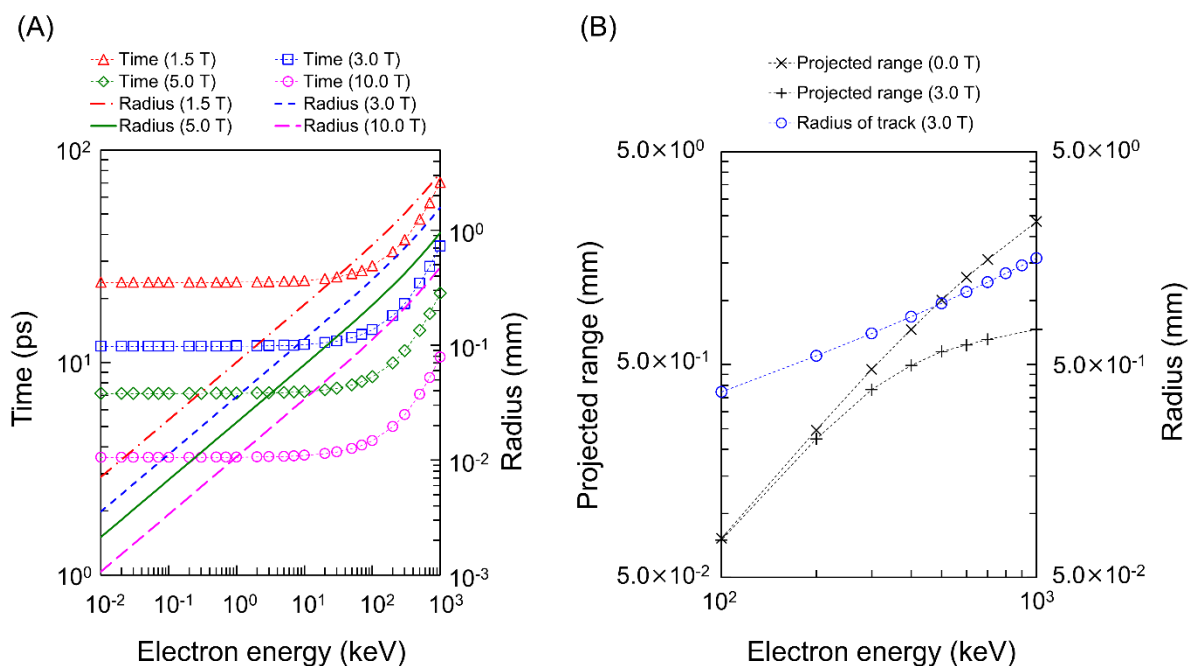


図 3-7 磁界下における真空中の電子線飛跡の回転時間および回転半径 (A)に磁界下における真空中の単色電子線エネルギーと回転時間および回転半径との関係性を示す。また、(B)に 10^2 - 10^3 keV の電子線エネルギーにおける真空中での回転半径と液相水中での射影飛程を示す。(A)では、磁束密度 $B=0.0$ - 10.0 T の範囲で単色電子線の解析を行った。(B)では、真空中での電子線飛跡の回転半径 (青丸) と水中における電子線飛程 (×: 非磁界下、+: 磁束密度 $B=3.0$ T) の比較を示す。(B)より数百 keV 以下の電子線エネルギーでは、飛程は回転半径と比較して十分に小さく、ローレンツ力の影響をほぼ受けないことが示唆された。

3.3.4. 磁場による電子線照射時の DNA 損傷生成率への影響

磁界下 ($B=0.0-10.0\text{ T}$) における単色電子線の DSB 生成率 Y_{DSB} を図 3-8(A)に示す。この結果より、 Y_{DSB} 値は電子線エネルギーには依存するが、磁束密度には依存しないことが示された。よって、 $0.1-300\text{ keV}$ の電子線エネルギー範囲では、平行磁場および垂直磁場の両方の場合で、 Y_{DSB} に対する磁場の影響がないことが確認された。*etsmode* による DNA 損傷生成率の推定にて、DNA スケール (ナノメートルスケール) では磁場の影響が現れないことが示された。

液相水中に高エネルギー電子線が入射した場合、電子線の相互作用によって発生する数十 eV の二次電子と、内殻電子の励起により発生する 500 eV 程度のオージェ電子が多数生成される。これらの電子の DSB 生成への寄与を明らかにするため、二次電子およびオージェ電子を考慮しない場合の Y_{DSB} 値を推定した (図 3-8(B))。100 keV 電子線に着目した場合、二次電子およびオージェ電子を考慮しない場合の Y_{DSB} 値は、全ての電子線を考慮した場合の Y_{DSB} 値よりも低くなった。さらに、二次電子およびオージェ電子を考慮しない場合の Y_{DSB} 値はほぼ 0 であった。二次電子およびオージェ電子を考慮しない場合の Y_{DSB} 値の最大値は 1.51 (電子線エネルギー 0.4 keV の場合) であった。全ての二次電子を考慮した場合の Y_{DSB} 値は、同一のエネルギー (0.4 keV) において 3.35 であり、二次電子を考慮しない場合の Y_{DSB} は約半分の値であった。これらの結果は、100 keV を超える高エネルギー電子線では、オージェ電子を含む二次電子が主因となり DSB を生成することを示した[33]。低エネルギー電子線は数フェムト秒の間に非弾性衝突 (電離、励起) を引き起こすことで停止し、その penetration length は 10 nm 程度である。図 3-7 に示す通り、磁場の影響を受ける電子線の特徴として、回転時間および回転半径はそれぞれ数 ps および数 μm である。したがって、オージェ電子を含む二次電子線は磁場の影響を受ける前に停止する。

全ての二次電子線を考慮した場合とオージェ電子を考慮しない場合の総 DSB 生成率に対する complex DSB 生成率 (cDSB/DSB) を図 3-9(A)に示す。さらに、磁界下 ($B = 0.0-10.0\text{ T}$) における 100 keV および 300 keV 電子線の cDSB/DSB を図 3-9(B)に示す。cDSB/DSB 値はいずれの磁場強度でも影響を受けなかった。これらの結果は、オージェ電子が DNA 損傷の複雑さに寄与し、そのエネルギーが磁場の影響を受けるに

は不十分であるという結果と相関している (図 3-7)。

本研究の DNA 損傷生成率の推定は物理学的過程に基づいており、磁場の影響によって生物学的影響が変化しないことが示唆された。先行研究においても、磁界下における X 線照射後に測定された細胞生存率に磁場の影響がないことが確認されている [10-12]。一方、低 LET 放射線照射後の細胞致死効果に関して、平行磁場印加により増加したという報告も存在する [8,9]。細胞致死効果への磁場の影響を確認するため、microdosimetry の物理量である線量平均線エネルギー y_D (keV/ μm) [27] を計算した (図 3-10)。microdosimetry の物理量は細胞生存率の推定に関係するため [39,40]、計算対象とした。 y_D 値の計算には、第一原理計算によって相互作用間の電子線飛跡構造を推定する WLTrack を使用し、付与エネルギーのサンプリング球は直径 $\phi = 1.0 \mu\text{m}$ とした。 y_D 値の計算結果より、細胞スケールにおける付与エネルギーにおいても磁場の影響がないことが示された。

本研究にて推定された Y_{DSB} 値および y_D 値は、電子と液相水中 (生体組織) との物理的相互作用のみを考慮して推定した値である。つまり、今回の推定は放射線照射後の直接作用による DNA 損傷のみが考慮され、磁界下におけるラジカルの拡散や相互反応等の挙動は考慮されていない。今後は、化学的過程や生物学的過程を考慮した推定モデルによるシミュレーションが必要である。また、本研究で計算された DNA 損傷生成率に対する実測値は存在せず、将来的には実測値との比較による推定モデルの高精度化が必要であると考えられる。

MRI 融合放射線治療における電子線飛跡構造および DNA 損傷生成率に対する磁場の影響評価

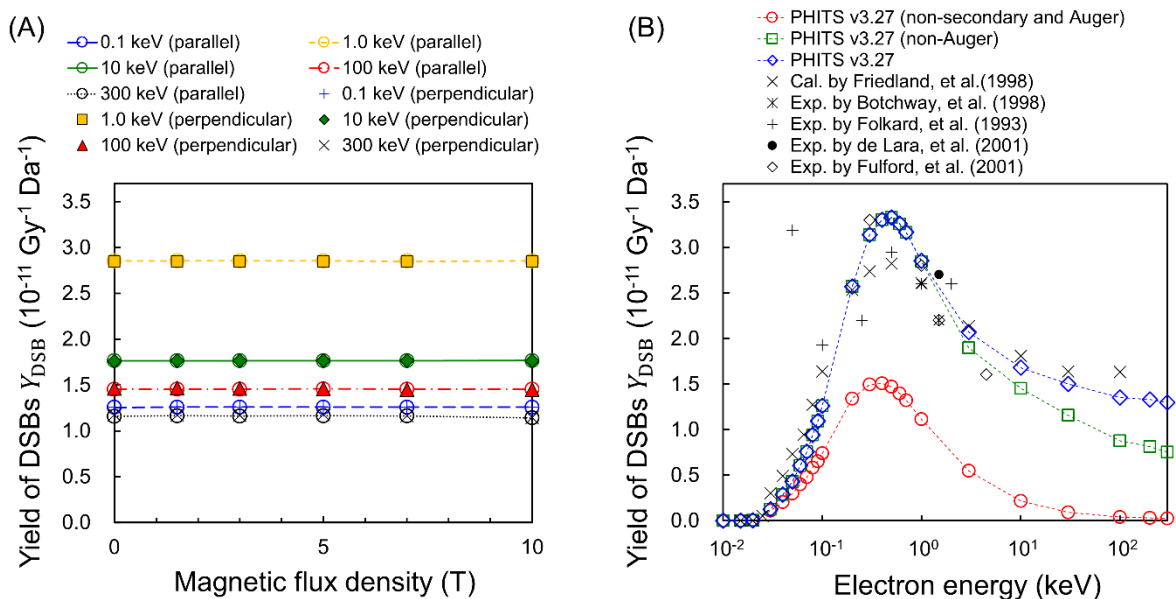


図 3-8 磁界下における単色電子線の DSB 生成率 (A)に磁束密度 $B = 0.0-10.0 \text{ T}$ での 0.1-300 keV 単色電子線の Y_{DSB} 値を示す。(B)に各単色電子線エネルギーの Y_{DSB} を示す (青: 全電子線、緑: オージェ電子以外、赤: 二次電子、オージェ電子以外)。 Y_{DSB} 値は PHITS (v.3.27) [22]および DNA 損傷解析コード[26]を用いて計算した。これらの計算結果は他の計算値[34]および実験値[35-38]と比較された。

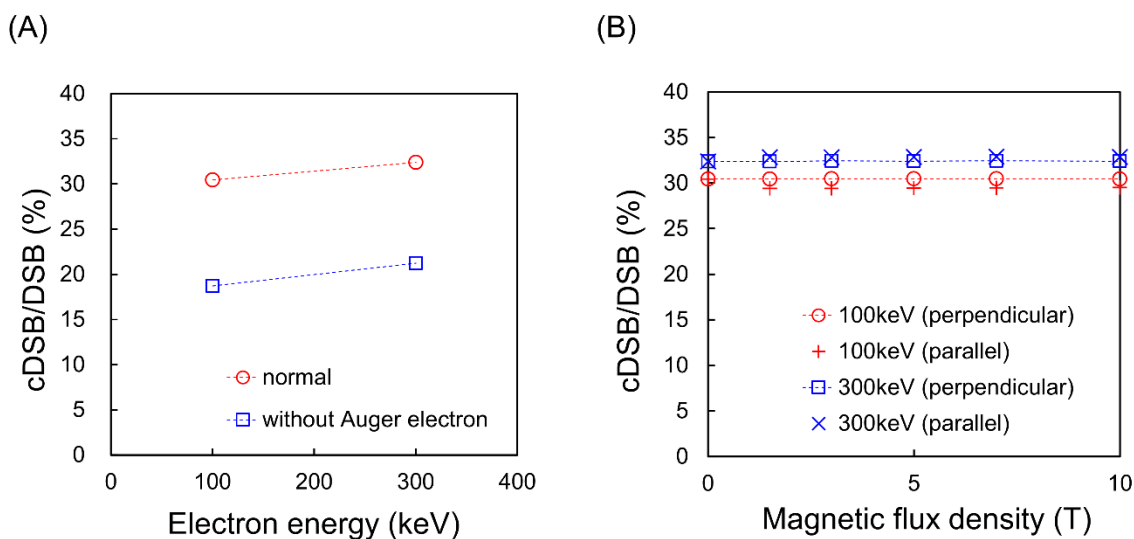


図 3-9 磁界下における complex DSB 生成率の計算結果 (A)に電子線エネルギー (100 keV および 300 keV) と全 DSB 生成率に対する complex DSB 生成率の割合 (cDSB/DSB) の関係を示す。(B)に磁束密度 ($B = 0.0-10.0 \text{ T}$) と 100 keV および 300 keV 電子線の cDSB/DSB との関係を示す。cDSB/DSB は PHITS (v.3.27) [22]および DNA 損傷解析コード[25]を使用して計算された。

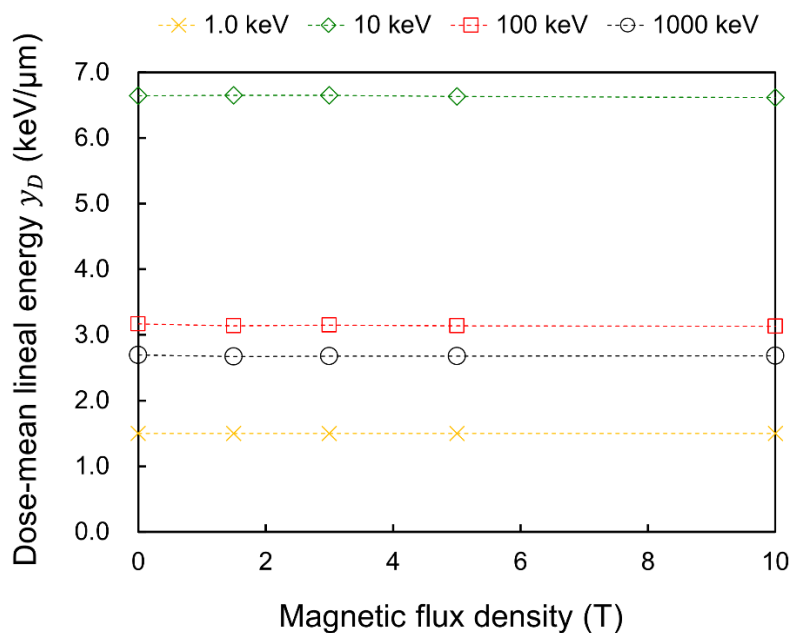


図 3-10 磁界下における 1-MeV 以下の電子線エネルギーの線量平均線エネルギー y_D 磁界下（磁束密度 $B=0.0-10.0$ T）における 1-MeV 以下の電子線エネルギーの線量平均線エネルギー y_D を示す。 y_D 値の計算には電子線輸送 MC コードである WLTrack[15]を採用した。サンプリング球の直径は $\phi=1.0 \mu\text{m}$ とした。この計算結果より、磁束密度 $B=10.0$ T 以下では、1-MeV 以下の電子線エネルギーによる y_D 値は磁場の影響を受けないことが示された。

3.4. 小括

本研究では、PHITS に実装されている電子線飛跡解析コードを使用して、磁界下における線量分布、電子線飛程および初期の DNA 損傷生成率を解析した。マクロスケールの評価では、放射線治療に用いられる高エネルギー電子線 (MeV オーダー) の線量分布と射影飛程が磁場により変化した。しかし、DNA スケール (ナノメートルスケール) での評価では、初期の DNA 損傷生成率が磁場強度に依存しないことが示された。これらの推定結果は、MRgRT における治療計画にて、磁場によって線量分布が受ける影響を考慮しつつ、生物学的影響においては非磁界下の放射線治療と同等に扱えることを示唆している。本研究でのシミュレーションは物理学的過程のみに基づいて行われており、将来的には、化学的過程と生物学的過程にて磁場が及ぼす影響についても評価する必要がある。

参考文献

1. Lagendijk, J. J. et al. MRI/linac integration. *Radiother. Oncol.* **86**: 25-29 (2008).
2. Raaymakers, B. W., Raaijmakers, A. J. E., Kotte, A. N. T. J., Jette, D. & Lagendijk, J. J. W. Integrating a MRI scanner with a 6 MV radiotherapy accelerator: Dose deposition in a transverse magnetic field. *Phys. Med. Biol.* **49**: 4109–4118 (2004).
3. Raaymakers, B. W., Lagendijk, J. J., Overweg, J., Kok, J. G., Raaijmakers, A. J., Kerkhof, E. M., van der Put R. W., Meijnsing, I., Crijns, S. P., Benedosso, F., van Vulpen, M., de Graaff, C. H., Allen, J. and Brown, K. J. Integrating a 1.5 T MRI scanner with a 6 MV accelerator: proof of concept. *Phys. Med. Biol.* **54**(12): N229-237 (2009).
4. Mutic, S. and Dempsey, J. F. The ViewRay system: magnetic resonance-guided and controlled radiotherapy. *Semin. Radiat. Oncol.* **24**(3): 196-9 (2014).
5. Raaijmakers, A. J., Raaymakers, B. W., Lagendijk, J. J. Integrating a MRI scanner with a 6 MV radiotherapy accelerator: dose increase at tissue-air interfaces in a lateral magnetic field due to returning electrons. *Phys. Med. Biol.* **50**(7):1363–1376 (2005).
6. Nakahara, T., Yaguchi, H., Yoshida, M. and Miyakoshi, J. Effects of exposure of CHO-K1 cells to a 10-T static magnetic field. *Radiology* **224**(3): 817–822 (2002).
7. Takatsuji, T. Sasaki, M. S. and Takekoshi, H. Effect of static magnetic field on the induction of chromosome aberrations by 4.9 MeV protons and 23 MeV alpha particles. *J. Radiat. Res.* **30**(3): 238–246 (1989).
8. Inaniwa, T. et al. Effect of external magnetic fields on biological effectiveness of proton beams. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **106**(3): 597–603 (2020).
9. Inaniwa, T. et al. Enhancement of biological effectiveness of carbon-ion beams by applying a longitudinal magnetic field. *Int J Radiat Biol.* **95**(6): 720–724 (2019).
10. Rockwell, S. Influence of a 1400-gauss magnetic field on the radiosensitivity and recovery of EMT6 cells in vitro. *Int. J. Radiat. Biol.* **31**(2): 153–160 (1977).
11. Nath, R., Schulz, R. J. and Bongiorno, P. Response of mammalian cells irradiated with 30 MV X-rays in the presence of a uniform 20-kilogauss magnetic field. *Int. J. Radiat. Biol.* **38**(3): 285–292 (1980).
12. Wang, L. Biological responses of human solid tumor cells to X-ray irradiation within a 1.5-Tesla magnetic field generated by a magnetic resonance imaging-linear accelerator. *Bioelectromagnetics* **37**(7): 471–480 (2016).
13. Nikjoo, H. & Girard, P. A model of the cell nucleus for DNA damage calculations. *Int. J. Radiat. Biol.* **88**(1–2): 87–97 (2012).
14. Friedland, W., Dingfelder, M., Kunderát, P. & Jacob, P. Track structures, DNA targets and radiation effects in the biophysical Monte Carlo simulation code PARTRAC. *Mutat. Res.* **711**(1–2): 28–40 (2011).
15. Date, H., Sutherland, K. L., Hasegawa, H. & Shimoza, M. Ionization and excitation collision processes of electrons in liquid water. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B* **265**: 515–520 (2007).
16. Salvat, F. PENELOPE-2018: A Code System for Monte Carlo Simulation of Electron and Photon Transport. NEA/MBDAV/R(2019)1. ISBN: 9789264489950 (2019).
17. Sempau, J., Acosta, E., Baro, J., Fernández-Varea, J. M. and Salvat, F. An algorithm for Monte Carlo simulation of coupled electron-photon transport. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B* **132**(3): 377–390 (1997).
18. Incerti, S. et al. The Geant4-DNA project. *Int. J. Model. Simul. Sci. Comput.* **1**(2): 157-178 (2010).
19. Schuemann, J., et al. TOPAS-nBio: An Extension to the TOPAS Simulation Toolkit for Cellular and Sub-cellular Radiobiology. *Radiat Res.* **191**(2): 125–138 (2019).
20. Kirkby, C., Stanescu, T. and Fallone, B. G. Magnetic field effects on the energy deposition spectra of MV photon radiation. *Phys. Med. Biol.* **54**: 243–257 (2009).
21. Bug, M. U. et al. Effect of a magnetic field on the track structure of low-energy electrons: a Monte Carlo study. *Eur. Phys. J. D* **60**: 85–92 (2010).
22. Sato, T. et al. Features of Particle and Heavy Ion Transport code System (PHITS) version 3.02. *J. Nucl. Sci. Technol.* **55**, 684–690 (2018).
23. Kai, T., Yokoya, A., Ukai, M., and Watanabe, R., Cross sections, stopping powers, and energy loss rates for rotational and phonon excitation processes in liquid water by electron impact. *Radiat. Phys. Chem.* **108**, 13–17 (2015).
24. Kai, T., Yokoya, A., Ukai, M., Fujii, K., and Watanabe, R. Thermal equilibrium and prehydration processes of electrons injected into liquid water calculated by dynamic Monte Carlo method. *Radiat. Phys. Chem.* **115**, 1–5 (2015).
25. Matsuya, Y. et al. A simplified cluster analysis of electron track structure for estimating complex DNA damage yields. *Int. J. Mol. Sci.* **21**(5): 1701 (2020).
26. Matsuya, Y. et al. Track-structure mode in Particle and Heavy Ion Transport code System (PHITS): application to radiobiological research. *Int. J. Radiat. Biol.* **98**(2), 148–157 (2022).

27. ICRU. Microdosimetry. Report 36. International Commission on Radiation Units and Measurements. Bethesda: MD (1983).
28. Matsuya, Y. et al. Verification of KURBUC-based ion track structure mode for proton and carbon ions in the PHITS code. *Phys. Med. Biol.* **66**(6): 06NT02 (2021).
29. Hirayama, H., Namito, Y., Bielajew, A. F., Wilderman, S. J. & Nelson, W. R. The EGS5 code system. SLAC Report 730, prepared for the Department of Energy, USA (2005).
30. Yachi, Y. et al. Track Structure Study for Energy Dependency of Electrons and X-rays on DNA Double-Strand Break Induction. *Sci. Rep.* **9**:17649 (2019).
31. Iwamoto, Y. et al. Benchmark study of the recent version of the PHITS code. *J. Nucl. Sci. Technol.* **54**(5): 617–635 (2017).
32. Francis, Z. et al. Molecular scale track structure simulations in liquid water using the Geant4-DNA Monte-Carlo processes. *Appl. Radiat. Isot.* **69**(1): 220–226 (2011).
33. Nikjoo, H., Oneill, P., Goodhead, D. T. and Terrissol, M. Computational modelling of low-energy electron-induced DNA damage by early physical and chemical events. *Int. J. Radiat. Biol.* **71**(5): 467–483 (1997).
34. Friedland, W., Jacob, P., Paretzke, H. G. and Stork, T. Monte Carlo simulation of the production of short DNA fragments by low-linear energy transfer radiation using higher-order DNA models. *Radiat. Res.* **150**(2): 170–182 (1998).
35. Botchway, S. W., Stevens, D. L., Hill, M. A., Jenner, T. J. and O'Neill, P. Induction and rejoining of DNA double-strand breaks in Chinese hamster V79–4 cells irradiated with characteristic aluminum K and copper L ultrasoft X rays. *Radiat. Res.* **148**: 317–324 (1997).
36. Folkard, M. et al. Measurement of DNA damage by electron with energies between 25 and 4000 eV. *Int. J. Radiat. Biol.* **64**(6): 651–658 (1993).
37. de Lara, C. M., Hill, M. A., Jenner, T. J., Papworth, D. and O'Neill, P. Dependence of the yield of DNA double-strand breaks in Chinese hamster V79–4 cells on the photon energy of ultrasoft X rays. *Radiat. Res.* **155**: 440–448 (2001).
38. Fulford, J., Nikjoo, H., Goodhead, D. T. and O'Neill, P. Yields of SSB and DSB induced in DNA by Al_K ultrasoft X-rays and α -particles: Comparison of experimental and simulated yields. *Int. J. Radiat. Biol.* **77**(10): 1053–1066 (2001).
39. Matsuya, Y., Fukunaga, H., Omura, M. and Date, H. A model for estimating dose-rate effects on cell-killing of human melanoma after boron neutron capture therapy. *Cells* **9**(5): 1117 (2020).
40. Parisi, A. et al. Development of a new microdosimetric biological weighting function for the RBE₁₀ assessment in case of the V79 cell line exposed to ions from ¹H to ²³⁸U. *Phys. Med. Biol.* **65**(23): 235010 (2020).

第4章

総括および今後の展望

4.1. 総括

本研究では、放射線照射時に誘発される初期の生物学的影響である DNA 損傷、とくに染色体異常や細胞死といった重篤な損傷を誘発しやすい DSB に着目した。そして、放射線照射後の物理学的過程（電離・励起の発生）について MC コードを用いて解析し、初期の生物学的過程である DNA 損傷生成率を推定した。

第2章では、細胞核内に発生する DSB を計測することが可能な γ -H2AX focus 形成法と、MC コードによる電離、励起の局所密度解析とを組み合わせることにより、光子線照射時の complex DSB 生成率を簡便な実験手法にて推定することに成功した。 γ -H2AX foci 面積とナノメートルスケールの領域内に発生する電離、励起数に比例関係が成立すると仮定し、complex DSB の生成に必要な電離、励起数の閾値を γ -H2AX foci 面積の閾値に換算した。その結果、 γ -H2AX foci 面積の閾値から各 X 線エネルギーの complex DSB 生成率を推定することが可能となった。加えて、光子線エネルギーの生物学的影響を考慮する際は、complex DSB 生成率ではなく、総 DSB 数が重要であることが明らかとなった。

第3章では、現在普及の進む MRgRT を想定した電子線照射の生物学的影響に対する磁場の影響を、MC シミュレーションを用いて DNA 損傷生成率を解析することで評価した。放射線治療で用いられる高エネルギー電子線（1 MeV, 10 MeV 電子線）では、線量分布や電子線飛程のようなマクロスケールの領域で磁場強度の増加により変化が確認された。一方で、ナノメートルスケールでの電離、励起密度を反映する DSB 生成率では磁場による変化が確認されなかった。したがって、MRgRT を行う際の治療計画では、磁場による線量分布を考慮する必要があるが、DSB 生成率すなわち生物学的影響は、従来の非磁界下における放射線治療と同等とみなすことが可能であるこ

とが示唆された。

これらの研究では、MCシミュレーションを用いることで、complex DSB生成率の新たな実験的解析手法の開発および新たな放射線治療における生物学的影響の推定を遂行した。本論文で扱われた2つの研究より、MCシミュレーションの利用はcomplex DSBのような細胞実験のみでは解析不可能である損傷の精細な解析が可能となる。また、磁界下における電子線照射といった、実測可能な施設が限られるような体系をシミュレーション上で模擬し、新たな放射線治療を行う場合のDNA損傷生成率を推定することが可能となる。これらの研究から、MCシミュレーションを用いた物理学的過程（電離・励起の空間分布）の解析により、治療に資する生物学的過程の初期応答（DNA損傷生成率）の高精度な推定に成功したといえる。

4.2. 今後の展望

本研究にて行われた解析の高精度化を図るために、次のような事項が今後の課題として挙げられる。

- 本研究のDSB生成率解析に用いられたMCコード（PHITSおよびWLTrack）は、物理学的過程（二次電子線の飛跡構造）のみ考慮している。したがって、二次電子線が誘発する電離、励起により直接引き起こされるDSBのみを定量化しており、ラジカルの挙動（拡散、相互反応）とそれによって引き起こされるDSBは推定しておらず、化学的過程については考慮していない。本研究では電子線・光子線といった低LET放射線を使用しており、電離・励起の空間分布がシングルスパークのような離散的分布であるため、ラジカルの反応がスパーク内で完結する。そのため、直接作用によるDSB生成率と間接作用によるDSB生成率が比例関係となり、DSB生成率の相対値には影響を及ぼさない。しかし、高LET放射線のような飛跡に沿って多数の二次電子線が発生する線質の放射線を解析する場合は、ラジカルの反応もさらに考慮する必要があると考えられる。このように、様々な放射線の種類において生物学的影響をより正確に把握するためには、化学的過程の解析が可能なコードの開発が必要である。

- 本研究では、生体内の構造とは異なる任意体系でのシミュレーション解析・細胞実験を行っている。シミュレーションにおいては、液相水中における電子線飛跡構造解析にて DSB 生成率を推定したが、実際の生体では、液相水と比較して、より不均一かつ複雑な構成であると考えられる。また、臨床適応となる悪性腫瘍に関しては、細胞や細胞核等の大きさが不均一である。そういった腫瘍内不均一性においてもシミュレーション解析を可能とするためには、将来的に生体構造をより正確に模擬できるような体系をコード内に組み込み、検証する必要がある。細胞実験においては、より実際の生体構造に近い 3D 培養法や *in vivo* 実験への応用について検討する必要がある。

【第2章 電子線飛跡構造解析に基づく複雑な DNA 損傷生成の実験的解析】

- 本研究では、実験的解析のみで完結する手法にて complex DSB 生成率を実測していない。今後の課題として、SSB や BD に対する免疫蛍光染色を行い γ -H2AX foci との共焦点を観測するといった手法を用い、complex DSB の実測値を取得し、本研究にて開発された解析手法による complex DSB 推定値との比較が必要である。
- 本研究にて開発された complex DSB 生成率推定手法は、光子線や電子線といった低 LET 放射線のみを対象としている。低 LET 放射線照射時に生成される γ -H2AX foci は隣接する foci 同士が重なる確率が低く、foci 面積が DSB の複雑さを反映している。しかし、高 LET 放射線では、飛跡に沿って大量の二次電子線が発生するため、foci 同士の重なりを考慮する必要がある。今後は高 LET 放射線にも適用可能となるよう、解析手法の発展が期待される。

【第3章 MRI 融合放射線治療にて磁場が飛跡構造および DNA 損傷生成率に与える影響の推定】

- 本研究にて解析したエネルギーと同一の電子線照射による実測データは存在せず、本研究にて解析された DSB 生成率は実測値と比較されていない。*etsmode* による推定値は、先行研究にて良く検証された EGS モードの推定値と良い一致を示し、

妥当性は検証されている。しかし、今後の課題としてシミュレーションと同条件での照射実験による DSB 生成率の測定値を取得し、MC コードによる推定値と比較検討する必要がある。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、指導教員として直接ご指導を賜りました北海道大学大学院保健科学研究院教授 伊達広行先生、同研究院准教授 福永久典先生に厚くお礼申し上げます。また、本論文の執筆にあたり、主査および副査としてご助言を賜りました同研究院教授 神島保先生、北海道大学アイソトープ総合センター教授 久下裕司先生に深謝いたします。副指導教員である北海道大学大学院保健科学研究院助教 堤香織先生には、細胞実験の遂行に際し、多くのご助言を頂きました。同じく副指導教員である同研究院講師 松谷悠佑先生には、数々の議論を通し、本研究全体を通してご助力を賜りました。深く感謝申し上げます。

日本原子力研究開発機構 (JAEA) 甲斐健師博士には、PHITS シミュレーションコードによる開発やデータ解析について数多くのご助言、ご助力を賜りました。北海道大学アイソトープ総合センター 吉井勇治博士には、DNA 損傷生成率の解析コードについて数多くのご助言、ご助力を賜りました。深く感謝申し上げます。

本研究は、日本原子力研究開発機構 萌芽研究開発制度および北海道大学 DX 博士人材フェローシップ (JST 次世代研究者挑戦的研究プログラム Grant No. JPMJSP2119) の助成を受けたものです。ここに深く感謝申し上げます。

最後に、博士後期課程にて、充実した学生生活をともに送った伊達研究室の皆様、前向きな言葉で励まし続けてくれた家族へ、心から感謝申し上げます。

業績リスト

【原著論文】

1. Yachi, Y., Kai, T., Matsuya, Y., Hirata, Y., Yoshii, Y., Date, H. Impact of the Lorentz Force on Electron Track Structure and Early DNA damage yields in Magnetic Resonance-Guided Radiotherapy. *Sci. Rep.* **12**: 16412 (2022).
2. Yachi, Y., Matsuya, Y., Yoshii, Y., Fukunaga, H., Date, H., Kai, T. An analytical method for quantifying the yields of DNA double-strand breaks coupled with strand breaks by γ -H2AX focus formation assay based on track-structure simulation. *Int. J. Mol. Sci.* **24**: 1386 (2023).

【参考論文】

1. Matsuya, Y., Kai, T., Yoshii, Y., Yachi, Y., Naijo, S., Date, H., Sato, T. Modeling of yield estimation for DNA strand breaks based on Monte Carlo simulations of electron track structure in liquid water. *J. Appl. Phys.* **126**: 124701 (2019).
2. Yachi, Y., Yoshii Y., Matsuya, Y., Mori, R., Oikawa, J., Date, H. Track Structure Study for Energy Dependency of Electrons and X-rays on DNA Double-Strand Break Induction. *Sci. Rep.* **9**: 17649 (2019).
3. Yamashina, H., Terashima, M., Oikawa, J., Naijo, j., Miyao, T., Yachi, Y., Matsuya, Y., Yamaguchi, M., Tsujiguchi, T., Saga, R., Jun, H., Goh Valerie Swee Ting, Nakamura, T., Hosokawa, Y., and Date, H. Radiation Safety and Public Health for Radiological Professionals: Meeting Report on The 5th Educational Symposium on Radiation and Health (ESRAH) by Young Scientists in 2018. *Radiat. Environ. Med.* **10**(1): 48-54 (2021).
4. Matsuya, Y., McMahon, S. J., Butterworth, K. T., Naijo, S., Nara, I., Yachi, Y., Saga, R., Ishikawa, M., Sato, T., Date, H., Prise, K. M. Oxygen enhancement ratios of cancer cells after exposure to intensity modulated x-ray fields: DNA damage and cell survival. *Phys. Med. Biol.* **66**: 075014 (2021).
5. Hasegawa, K., Kitayama, Y., Nugraha, E. D., Yachi, Y., Naijo S., Miyao, T., Seino, R., Shiroto, Y., Tsujiguchi, T., Nakamura, T., Date, H. and Kashiwakura, I. Meeting Report on “The 6th Educational Symposium on Radiation and Health by Young Scientists (ESRAH2019)”. *Radiat. Environ. Med.* **10**(2): 108-114 (2021).

6. Matsuya, Y., Kusumoto T., Yachi, Y., Hirata, Y., Miwa, M., Ishikawa, M., Date, H., Iwamoto, Y., Matsuyama, S., Fukunaga, H. Features of accelerator-based neutron source for boron neutron capture therapy calculated by particle and heavy ion transport code system (PHITS). *AIP Adv.* **12**: 025013 (2022).
7. Matsuya, Y., Hamada, N., Yachi, Y., Satou, Y., Ishikawa, M., Date, H., Sato, T. Inflammatory Signaling and DNA Damage Responses after Local Exposure to an Insoluble Radioactive Microparticle. *Cancers* **14**(4): 1045 (2022).

【国際会議】

1. ○Yachi, Y., Yoshii, Y., Matsuya, Y., Date, H. Effects of X-ray energy spectrum and electron track structure on DNA damage. The 5th Educational Symposium on RADIATION AND HEALTH by young scientists (ESRAH2018). September 29-30, 2018 (Sapporo, Japan). (poster)
2. ○Yachi, Y., Yoshii, Y., Matsuya, Y., Date, H. Monte Carlo simulation of the energy deposition by ionizing radiations in micro- and nano-meter scales. 18th Asia-Oceania Congress of Medical Physics (AOCMP) & 16th South-East Asia Congress of Medical Physics (SEACMP). November 11-14, 2018 (Kuala Lumpur, Malaysia). (oral)
3. ○Yachi, Y., Niwa, M., Yoshii Y., Matsuya, Y., Date, H. Evaluation of the Biological Impact by Mammographic Low-Energy X-rays. The 4th FHS International Conference. July 5, 2019 (Sapporo, Japan). (poster and 1min-oral)
4. ○Yachi, Y., Yoshii, Y., Matsuya, Y., Date, H. Electron track structure analysis for an update of cross sections. The 6th Educational Symposium on RADIATION AND HEALTH by young scientists (ESRAH2019). September 14, 2019 (Hirosaki, Japan). (poster and 1min-oral).
5. ○H. Mori, Y. Yachi, H. Date. Evaluation of the Radio-Sensitivity Associated with Bystander Effects for Normal and Tumor Cells. The 5th FHS International Conference. September 17-18, 2021 (Sapporo, Japan). (poster and 1min-oral)
6. ○S. Saito, Y. Yachi, K. Tsutsumi, H. Date. Analysis of Non-Targeted Effects on the Cells Under Intensity-Modulated Radiation Exposure. The 5th FHS International Conference. September 17-18, 2021 (Sapporo, Japan). (poster and 1min-oral)

7. ○T. Yamashita, Y. Yachi, H. Date. Monte Carlo Simulation Analysis of Direct DNA Damage Induction by Photon Irradiations. The 5th FHS International Conference. September 17-18, 2021 (Sapporo, Japan). (poster and 1min-oral)
8. ○Yachi, Y., Date, H. Evaluation of DNA damage aggregation for various X-ray energies. The 5th FHS International Conference. September 17-18, 2021 (Sapporo, Japan). (poster and 1min-oral)
9. ○H. Mori, Y. Yachi, H. Date. Evaluation of the radio-sensitivity of cells after non-uniform irradiations. The 8th Educational Symposium on RADIATION AND HEALTH by young scientists (ESRAH2021). November 12-13, 2021 (online). (poster and 3min-oral)
10. ○S. Saito, Y. Yachi, K. Tsutsumi, H. Date. Analysis of biological effects on the cells under intensity-modulated radiation exposure. The 8th Educational Symposium on RADIATION AND HEALTH by young scientists (ESRAH2021). November 12-13, 2021 (online). (poster and 3min-oral)
11. ○T. Yamashita, Y. Yachi, H. Date. Analysis of the relationship between the energy of X-rays and DNA cluster damage by Monte Carlo simulation. The 8th Educational Symposium on RADIATION AND HEALTH by young scientists (ESRAH2021). November 12-13, 2021 (online). (poster and 3min-oral)
12. ○Yachi, Y., Kai, T., Matsuya, Y., Hirata, Y., Yoshii, Y., Date, H. Estimation of biological effects after electron irradiation during static magnetic fields in magnetic resonance-guided radiotherapy. The 8th Educational Symposium on RADIATION AND HEALTH by young scientists (ESRAH2021). November 12-13, 2021 (online). (poster and 3min-oral)
13. ○Yachi, Y., Matsuya, Y., Yoshii, Y., Fukunaga, H., Date, H., Kai, T. Evaluation of complex DNA double-strand breaks after exposure to photon beams by means of γ -H2AX focus formation assay and Monte Carlo track-structure simulation. The 9th Educational Symposium on RADIATION AND HEALTH by young scientists (ESRAH2022). December 3-4, 2022 (online). (oral)

【国内学会】

1. ○谷内淑恵、吉井勇治、松谷悠佑、伊達広行. 光子線・電子線による微視的線量付与のモンテカルロシミュレーション解析. 日本放射線技術学会 北海道支部 第73回秋季大会. 2017年11月18-19日 札幌. (口頭発表)

2. ○Yachi, Y., Yoshii, Y., Matsuya, Y., Date, H. Microdosimetric evaluation of photon-energy dependence on biological effectiveness. 第 115 回日本医学物理学会学術大会. 2018 年 4 月 12-15 日 横浜. (口頭発表)
3. ○谷内淑恵、吉井勇治、松谷悠佑、伊達広行. 核内誘発 DNA 損傷数に関する光子・電子エネルギーの依存性. 日本保健物理学会第 51 回研究発表会. 2018 年 6 月 29-30 日 札幌. (口頭発表)
4. ○丹羽茉衣花、谷内淑恵、吉井勇治、松谷悠佑、伊達広行. 乳房 X 線撮影による生物学的影響の推定. 日本放射線技術学会 北海道支部 第 74 回秋季大会. 2018 年 11 月 24-25 日 札幌. (口頭発表)
5. ○Saito, S., Matsuya, Y., Yachi, Y., Naijo, S., Date, H. Temporal change in the number of DNA double-strand breaks caused by non-target effects in an intensity-modulated irradiation field. 第 76 回日本放射線技術学会総会学術大会. 2020 年 5 月 15 日-6 月 14 日 online 開催. (口頭発表)
6. ○Mori, H., Matsuya, Y., Yachi, Y., Naijo, S., Date, H. Radio-sensitivities of cultured cells exposed to a variety of irradiation area. 第 76 回日本放射線技術学会総会学術大会. 2020 年 5 月 15 日-6 月 14 日 online 開催. (口頭発表)
7. ○Yamashita, T., Yachi, Y., Yoshii, Y., Matsuya, Y., Date, H. Nanoscopic analysis of DNA-strand breaks of the cells exposed to X-ray radiations. 第 76 回日本放射線技術学会総会学術大会. 2020 年 5 月 15 日-6 月 14 日 online 開催. (口頭発表)
8. ○斉藤駿、谷内淑恵、伊達広行. 低酸素環境下における生体細胞への放射線照射が引き起こす非標的効果の検討. 第 49 回日本放射線技術学会秋季学術大会. 2021 年 10 月 15-17 日 熊本. (口頭発表)
9. ○森大成、谷内淑恵、堤香織、伊達広行. 正常組織および腫瘍組織への照射割合の変化によるバイスタンダー効果の解析. 第 49 回日本放射線技術学会秋季学術大会. 2021 年 10 月 15-17 日 熊本. (口頭発表)
10. ○R. Seino, Y. Yachi, H. Mori, H. Date. A model analysis of radiation-induced damage considering repair probabilities of the lesions as time elapses. 第 64 回日本放射線影響学会 秋季大会. 2021 年 9 月 22-24 日 online 開催. (口頭発表)

11. ○Y. Yachi, H. Data. Experimental analysis of DNA damage formation depending on X-ray energy. 第 64 回日本放射線影響学会 秋季大会. 2021 年 9 月 22-24 日 online 開催. (口頭発表)

【セミナー】

1. ○谷内淑恵, 吉井勇治, 伊達広行. 低エネルギー電子線による DNA 損傷の生成率解析. PHITS 研究会. 2019 年 8 月 5 日 つくば. (口頭発表)

【社会活動】

1. Committee member, The 5th Educational Symposium on RADIATION AND HEALTH by young scientists (ESRAH2018). September 29-30, 2018 (Sapporo, Japan).
2. Chairperson, Invited Talk 3, The 5th Educational Symposium on RADIATION AND HEALTH by young scientists (ESRAH2018). September 30, 2018 (Sapporo, Japan).
3. Committee member, The 6th Educational Symposium on RADIATION AND HEALTH by young scientists (ESRAH2019). September 14, 2019 (Hirosaki, Japan).
4. Chairperson, Educational Lecture 3, The 6th Educational Symposium on RADIATION AND HEALTH by young scientists (ESRAH2019). September 14, 2019 (Hirosaki, Japan).
5. Committee member, The 8th Educational Symposium on RADIATION AND HEALTH by young scientists (ESRAH2021). November 12-13, 2021 (online).
6. Chairperson, Educational Lecture 1, The 8th Educational Symposium on RADIATION AND HEALTH by young scientists (ESRAH2021). November 12, 2021 (online).
7. Committee member, The 9th Educational Symposium on RADIATION AND HEALTH by young scientists (ESRAH2022). December 3-4, 2022 (online).
8. Chairperson, Short presentation section 3, The 9th Educational Symposium on RADIATION AND HEALTH by young scientists (ESRAH2022). December 3, 2022 (online).

【競争的資金】

1. 北海道大学 DX 博士人材フェローシップ (JST 次世代研究者挑戦的研究プログラム Grant No. JPMJSP2119) 採択期間 : 2021.10-2023.3 研究奨励費 年間 1800,000 円, 研究費 年間 400,000 円

付録

WLTrack における複雑な DNA 損傷生成率の解析コード

```
!*****  
!      modCube.f90      ver. 1.00!  
!      prototype(modSphere_cubemode_yyachi.f90) by Y.Yachi (2019/07)  
!      completed ver. by Y.Yachi (2020/02)  
!      last update 2020/02/28 Y.Yachi  
!*****  
      module modCube  
          implicit none  
          public :: EventCnt, iniEventCnt, setEventCnt, postEventCnt, endEventCnt2  
          integer, private :: cnt, cnt2, cnt3  
  
          real(8), private :: thist_inum(10000)  
  
          real(8), private :: sqa  
          real(8), private :: radius, radius2, sqa2  
          integer, private :: total_inum(1000, 100000)  
      contains  
          subroutine setEventCnt(squa0)  
              real(8), intent(in) :: squa0  
              squa=squa0  
              write(700,*)'squa,',squa  
              close(700)  
  
          end subroutine  
  
          subroutine iniEventCnt  
              real(8) :: yyscale(10001)  
              integer :: cnt  
  
              !--OPEN_csv-----  
              OPEN(700,FILE='700modCube_Parameter.csv')  
              write(700,*)'modSpere Parameter'  
  
              OPEN(710,FILE='710modCube_eventnum.csv')
```



```

write(710,*)' event_number, freq'

OPEN(720, FILE=' 720modCube_event-to-damage. csv' )
write(720,*)' event_number, tot_freq, avr_freq, sd, sSSB, sd, sDSB, sd'

OPEN(730, FILE=' 730modCube_cubemode_ssb-and-dsb. csv' )
write(730,*)' batch, SSB, DSB'

OPEN(740, FILE=' 740modCube_cubemode_raw-data. csv' )
write(740,*)' batch, event_number, freq, sSSB, sDSB'

!***USER SETTING INFORMATION*****
      sqa=3.4                                ! square[nm]
!*****

write(700,*)' sqa, ', sqa

!--- parameter of modCube-----
total_inum=0.0

!-----

end subroutine

subroutine preEventCnt
  !initialization

  thist_inum=0.0
end subroutine

subroutine postEventCnt(batch)
  integer, intent(in)::batch
  integer :: i
  integer :: inum(10000), sum_inum(10000)
  integer, save::k=0

  !** total track *****

```

```

!--- for modCube -----
do cnt2=1, 100
    total_inum(batch, cnt2)=thist_inum(cnt2)
!    print*, ' total_inum', batch, cnt2, total_inum(batch, cnt2)
end do

!-----

!*** end total track *****

end subroutine

subroutine endEventCnt2(inie, nbch)
    real (8), intent(in)::inie
    integer, intent(in)::nbch

    real (8)::sSSB(nbch, 10000), sDSB(nbch, 10000), sDSB_per_ssb

    integer :: cnt
    integer :: sumhist_inum(10000)

    real (8)::avr_inum(100), sub_inum(nbch, 100), sum_sub_inum(100), std_inum(100)

    real (8)::sum_sSSB(100), avr_sSSB(100), sub_sSSB(nbch, 100), sum_sub_sSSB(100), std_s
SSB(100)

    real (8)::sum_sDSB(100), avr_sDSB(100), sub_sDSB(nbch, 100), sum_sub_sDSB(100), std_s
DSB(100)

    real (8)::tsum_sSSB(nbch), tsum_sDSB(nbch)

!----set parameter-----
real, parameter :: pc=0.117 !default:0.117 (Garty et al, 2010)
!-----

!----for modCube-----
sumhist_inum=0.0

```

```

do cnt=1, nbch
  do cnt2=1, 100
    sumhist_inum(cnt2)=sumhist_inum(cnt2)+total_inum(cnt, cnt2)
  end do
end do

avr_inum=0.0
do cnt2=1, 100
  avr_inum(cnt2)=dble(sumhist_inum(cnt2))/nbch
end do

sub_inum=0.0
sum_sub_inum=0.0
do cnt2=1, 100
  do cnt=1, nbch
    sub_inum(cnt, cnt2)=(avr_inum(cnt2)-total_inum(cnt, cnt2))*2.0
    sum_sub_inum(cnt2)=sum_sub_inum(cnt2)+sub_inum(cnt, cnt2)
  end do
end do

std_inum=0.0
do cnt2=1, 100
  std_inum(cnt2)=sqrt(sum_sub_inum(cnt2)/nbch)
end do

sSSB=0.0
sum_sSSB=0.0
tsum_sSSB=0.0
do cnt=1, nbch
  do cnt2=1, 100
    sSSB(cnt, cnt2)=total_inum(cnt, cnt2)*2.0*((1.0-
pc/2.0)**cnt2-(1.0-pc)**cnt2)
    sum_sSSB(cnt2)=sum_sSSB(cnt2)+sSSB(cnt, cnt2)
    tsum_sSSB(cnt)=tsum_sSSB(cnt)+sSSB(cnt, cnt2)
  end do
end do

avr_sSSB=0.0

```

```

do cnt2=1, 100
    avr_sSSB(cnt2)=dble(sum_sSSB(cnt2))/nbch
end do

sub_sSSB=0.0
sum_sub_sSSB=0.0
do cnt2=1, 100
    do cnt=1, nbch
        sub_sSSB(cnt, cnt2)=(avr_sSSB(cnt2)-sSSB(cnt, cnt2))**2.0
        sum_sub_sSSB(cnt2)=sum_sub_sSSB(cnt2)+sub_sSSB(cnt, cnt2)
    end do
end do

std_sSSB=0.0
do cnt2=1, 100
    std_sSSB(cnt2)=sqrt(sum_sub_sSSB(cnt2)/nbch)
end do

sDSB=0.0
sum_sDSB=0.0
tsum_sDSB=0.0
do cnt=1, nbch
    do cnt2=1, 100
        sDSB(cnt, cnt2)=(1.0+(1.0-pc)**cnt2-2.0*(1.0-
pc/2.0)**cnt2)*total_inum(cnt, cnt2)
        sum_sDSB(cnt2)=sum_sDSB(cnt2)+sDSB(cnt, cnt2)
        tsum_sDSB(cnt)=tsum_sDSB(cnt)+sDSB(cnt, cnt2)
    end do
end do

avr_sDSB=0.0
do cnt2=1, 100
    avr_sDSB(cnt2)=dble(sum_sDSB(cnt2))/nbch
end do

sub_sDSB=0.0
sum_sub_sDSB=0.0
do cnt2=1, 100

```

```

        do cnt=1, nbch
            sub_sDSB(cnt, cnt2)=(avr_sDSB(cnt2)-sDSB(cnt, cnt2))*2.0
            sum_sub_sDSB(cnt2)=sum_sub_sDSB(cnt2)+sub_sDSB(cnt, cnt2)
        end do
    end do

    do cnt2=1, 100
        std_sDSB(cnt2)=sqrt(sum_sub_sDSB(cnt2)/nbch)
    end do

    do cnt=1, 100

        write(720, *) cnt, ', ', sumhist_inum(cnt), ', ', avr_inum(cnt), ', ', std_inum(cnt), ', ', a
vr_sSSB(cnt) &
            ', ', std_sSSB(cnt), ', ', avr_sDSB(cnt), ', ', std_sDSB(cnt)
    end do

    do cnt=1, nbch
        write(730, *) cnt, ', ', tsum_sSSB(cnt), ', ', tsum_sDSB(cnt)
    end do

    do cnt=1, nbch
        do cnt2=1, 100

            write(740, *) cnt, ', ', cnt2, ', ', total_inum(cnt, cnt2), ', ', sSSB(cnt, cnt2), ', ', sDSB(c
nt, cnt2)

        end do
    end do

    !-----end-----
end subroutine

subroutine EventCnt(inie, tnum, num, cpos, ctyp, cedep, max_inum, hist_inum)
    use mtmod
    real(8), intent(in)::inie
    integer, intent(in)::tnum

```

```

integer, intent(in)::num
real(8), intent(in)::cpos(3,num), cedep(num)
integer, intent(in)::ctyp(num)
integer, intent(out)::max_inum, hist_inum(10000)

integer :: pcnt
real(8) :: cpos2(3,num)
real(8) :: pos(3,3000000)

integer :: ntot
integer(8) :: inum(num)

squa2=squa**2

!--Step1--
!print*, "step1"
call EventCnt_step1(cpos, num, cpos2)
!cpo2=0.0

!--Step2_2--
!print*, "step2_2"
call
EventCnt_step2(cedep, num, cpos2, pcnt, pos, max_inum, hist_inum, inum)

!-- calculation of event number in cube -----
call EventCnt_step3(max_inum, hist_inum)

!-- recording of event number in cube -----

end subroutine

subroutine EventCnt_step1(cpos, num, cpos2)
integer, intent(in)::num
real(8), intent(in)::cpos(3,num)
real(8), intent(out) :: cpos2(3,num)
real(8)::x, y, z
x=minval(cpos(1,1:num))
y=minval(cpos(2,1:num))

```

```

        z=minval (cpos (3, 1:num))
        do cnt=1, num
            cpos2 (1, cnt)=cpos (1, cnt)-x+squa*2
            cpos2 (2, cnt)=cpos (2, cnt)-y+squa*2
            cpos2 (3, cnt)=cpos (3, cnt)-z+squa*2
        end do
    end subroutine

    subroutine
EventCnt_step2 (cedep, num, cpos2, pcnt, pos, max_inum, hist_inum, inum)
    real (8), intent (in) :: cedep (num)
    integer, intent (in) :: num
    real (8), intent (in) :: cpos2 (3, num)
    integer, intent (out) :: pcnt
    real (8), intent (out) :: pos (3, num)
    integer :: flag, x, y, z, k
    integer :: xx (num), yy (num), zz (num)
    integer :: xmax, ymax, zmax, numcube0
    integer (8), intent (out) :: inum (num)
    integer, intent (out) :: max_inum, hist_inum (10000)

    pos=0.0
    pcnt=1
    pos (1, pcnt)=int (cpos2 (1, 1)/squa)
    pos (2, pcnt)=int (cpos2 (2, 1)/squa)
    pos (3, pcnt)=int (cpos2 (3, 1)/squa)

    inum=0
    do cnt=1, num
        x=int (cpos2 (1, cnt)/squa)
        y=int (cpos2 (2, cnt)/squa)
        z=int (cpos2 (3, cnt)/squa)

        flag=1
        do cnt3=1, pcnt
            if (x==pos (1, cnt3)) then
                if (y==pos (2, cnt3)) then

```

```

                                if (z==pos(3, cnt3)) then
                                    flag=0
                                inum(cnt3)=inum(cnt3)+1
                                end if
                            end if
                        end if
                    end do

                    if (cnt/=num) then
                        pcnt=pcnt+1
                        pos(1, pcnt)=int(cpos2(1, pcnt)/squa)
                        pos(2, pcnt)=int(cpos2(2, pcnt)/squa)
                        pos(3, pcnt)=int(cpos2(3, pcnt)/squa)
                    end if

                    xx(cnt)=x
                    yy(cnt)=y
                    zz(cnt)=z

                end do

                xmax=maxval(xx)
                ymax=maxval(yy)
                zmax=maxval(zz)

                numcube0=(xmax*ymax*zmax)-pcnt
                write(710, *)0, ', ', numcube0

                max_inum=maxval(inum)

                hist_inum=0.0
                do cnt=1, max_inum
                    do cnt3=1, pcnt
                        if (inum(cnt3)==cnt) then
                            hist_inum(cnt)=hist_inum(cnt)+1
                        end if
                    end do
                end do
            end do
        end do
    end do
end do

```



```
        do cnt=1,max_inum
            write(710,*)cnt,',',hist_inum(cnt)
        end do

    end subroutine

    subroutine EventCnt_step3(max_inum,hist_inum)
        integer,intent(in) :: max_inum,hist_inum(10000)

        do cnt=1,max_inum
            thist_inum(cnt)=thist_inum(cnt)+hist_inum(cnt)
        end do
    end subroutine

end module
```

```
!----- end modCube -----
```