HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	放射線粒子輸送シミュレーションによるDNA二本鎖切断数の推定
Author(s)	吉井, 勇治
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(保健科学)
Dissertation Number	甲第12015号
Issue Date	2015-09-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k12015
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59914
Type	doctoral thesis
File Information	Yuji_Yoshii.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学　位　論　文

放射線粒子輸送シミュレーションによる DNA 二本鎖切断数の推定

吉井勇治

北海道大学大学院保健科学院
保健科学コース

２０１５年度

内容梗概

本論文は、筆者が北海道大学大学院保健科学院・保健科学コースにて行った「放射線粒子輸送シミュレーションによる DNA 二本鎖切断（DSB）数の推定」に関する研究の成果をまとめたものであり、以下の５章で構成される。以下各章ごとの概要を述べる。

第１章

本章では、本研究の導入として研究背景、過去の研究動向、並びにモンテカルロ法による放射線生物学的影響の評価における課題と本研究の目的について述べる。

第２章

本章では、モンテカルロ法による電子輸送シミュレーションのアルゴリズムや電子線の物質へのエネルギー付与における高密度領域の抽出を実現するアルゴリズムを解説するとともに、電子輸送のイベント事象の二点間距離に注目した新しい指標の導入と、シミュレーションの結果について述べる。従来用いられているミクロレベルの放射線の物理的過程を評価する指標として線エネルギーや比エネルギーがある。これらはある空間領域（長さ、質量）あたりのエネルギー付与で定義される一方で、電離放射線の飛跡が非球体であるため、空間のサイズに依存して評価値が変動するという欠点があった。

本研究ではイベント事象の二点間距離に注目した指標 AI（Aggregation Index）を導入することにより、電子線の飛跡の形状に依存することなく、ミクロレベルの放射線の物理的過程を定量的に評価することを可能とした。さらにこの指標を用いて、化学的過程の時空間的変化を解析し、DSB が電子線トラックの近傍で発生することを明らかにした。

第３章

本章では、第２章で説明した電子輸送シミュレーションと評価指標を用いて、放射線生物学的影響の解析をするモデルを構築し、電子線照射による DSB に関する基本特性を調べた結果について述べる。シミュレーションによる DNA 損傷の解析は、これまで DNA を模したファントムを使って計算するものが主流であったが，模擬するターゲットの構造により評価値が変動することが知られている。また物理的過程だけではなく、物理化学的過程や化学的過程を考慮することが多いため、計算に膨大な時間がかかることが問題であった。

本研究では、電離・励起事象の位置から算出した AI 値を用いて電子線エネルギーと DSB の関係を調べた。その結果、電子線エネルギーの違いによる AI と DSB の変動の傾向はきわめてよく一致することがわかり、電子線の電離・励起の隣接する頻度が DSB と密接な関係にあること、物理的過程を考慮した AI から生物学的影響の一つである DSB の数量を推定することができ、結果としてシミュレーションの計算時間を短縮できることを示した。

第４章

本章では第３章で述べたモデルをさらに発展させて、医療用 X 線に応用した結果について述べる。現在診療にかかわる被ばくは、吸収線量を評価の基準とし、被ばく線量の最適化を行っている。一方、吸収線量だけではなく、X 線エネルギースペクトルが生物学的応答に対して極めて重要な因子であり、生物学的効果比 Relative Biological Effectiveness（RBE）を変動させる。X 線エネルギーにより X 線と物質の相互作用の起こりやすさ（断面積）が異なり、発生する二次電子のエネルギーも変化する。微視的エネルギー付与の分布の違いが生物学的応答に対して極めて重要な因子であることが知られているが、シミュレーションを適用した事例はまだ少ない。今回提案した新しいモデルを用いることにより、医療用 X 線照射による DSB 誘導の過程において、二次電子の発生がどの程度重要となるかを把握することができるようになった。

本研究ではまず、X 線自体に由来する DSB と二次電子に由来する DSB に分離して計算を行い、X 線照射による DSB の大部分が、二次電子に由来することを明らかにした。次に高エネルギーX 線の一例として放射線治療用 6MVX 線、低エネルギーX 線の一例として乳房撮影用 28kVpX 線、基準放射線として 200kVp X 線と Co-60 γ 線を取り上げ、生体に X 線を照射したときに生成される DSB 数を推定し、それに基づく RBE を求め、細胞実験データと比較した。構築したモデルから評価された結果では、放射線治療用 6MVX 線の RBE は基準放射線より低く、乳房撮影用 28kVpX 線の RBE は基準放射線より高いことが分かり、それは細胞実験の結果と概ね一致した。よって、微視的エネルギー付与の分布を考慮した本モデルを用いることにより、診療用 X 線による DSB をエンドポイントとする RBE を推定することが可能となった。

第５章

本章では，本論文で取り上げる各研究の成果についてまとめた。

目次

第１章　序章 1
1.1　研究背景 1
1.1.1　医療用放射線 1
1.1.2　細胞レベルの放射線による生物学的影響 2
1.1.3　マイクロドジシメトリー 3
1.1.4　放射線による生物学的影響の解析の現状と課題 4
1.2　本研究の位置づけと論文構成 5
参考文献 7
第２章　電子線による電離・励起事象の凝集特性を解析するモデルの開発 10
2.1　はじめに 10
2.2　物理モデル 10
2.2.1　電子線と水の相互作用 10
2.2.2　化学的過程 12
2.3　電子輸送のモンテカルロシミュレーション 15
2.3.1　アルゴリズムの概要 15
2.3.2　飛行距離の決定及び衝突断面積 16
2.3.3　衝突反応の種類の決定 17
2.3.4　衝突後の進行方向の決定 18
2.3.5　電子線によるエネルギー付与とその二点間距離分布の関係 18
2.3.6　電子線によるエネルギー付与のクラスタリング 20
2.3.7　エネルギー付与の凝集度（Aggregation Index：AI） 21
2.4　電子線のエネルギー付与の空間分布解析 22
2.4.1　シミュレーションの妥当性の確認 22
2.4.2　DBSCAN クラスターの特性 24
2.4.3　クラスター内エネルギー付与数数と Aggregation index の関係 27
2.4.4　Aggregation Index の電子線入射エネルギー依存性 28
2.4.5　ラジカルの凝集度の経時的変化 31
2.5　まとめ 32
参考文献 33
第３章　電子線による DSB の発生 36
3.1　はじめに 36
3.2　電子線による DSB の定量化を推定するモデル 36
3.2.1　エネルギー付与間距離に基づく DSB 効率を推定するモデルの構築 36
3.2.2　Friedland らのシミュレーション実験の概要 37

3.3　電子輸送のシミュレーション結果と考察 40
3.3.1　Aggregation Index（AI）と DSB 40
3.3.2　クラスター内の DSB 41
3.4　まとめ 44
参考文献 45
第 4 章　X 線による DSB の発生 47
4.1　はじめに 47
4.2　光子輸送のモンテカルロシミュレーション 47
4.2.1　光子線と水の相互作用 47
4.2.2　光子輸送計算のアルゴリズムの概要 49
4.2.3　シミュレーション条件 50
4.3　光子線照射による生物学的影響の解析 53
4.3.1　光子線により誘導される DSB を推定するモデル 53
4.3.2　光子線照射による二次電子（STEP 1 の結果と考察） 56
4.3.3　光子線が誘導する DSB（STEP 2 の結果と考察） 59
4.3.4　二次電子が誘導する DSB（STEP3 の結果と考察） 60
4.3.5　光子線照射で生じる DSB の比較（STEP4 の結果） 61
4.4　まとめ 63
参考文献 64
第 5 章　結論 66
謝辞 68
業績リスト 69

図目次

図 1.1　生体内の二次電子の挙動と DNA 損傷 2
図 1.2　MC 法の幾何学的条件の模式図 5
図 1.3　論文構成 6
図 2.1　電子線の飛跡の模式図 11
図 2.2　放射線エネルギーによる水の分解 13
図 2.3　モンテカルロシミュレーションによる輸送計算 15
図 2.4　WLTRACK コードで使用した電子線の断面積データ 16
図 2.5　衝突反応の種類の決定の流れ図 17
図 2.6　ミクロスケールのエネルギー付与分布。 19
図 2.7　二次電子のエネルギー付与とポアソン配置の二点間距離分布の比較 19
図 2.8　1keV 電子線と DBSCAN アルゴリズムにより抽出したクラスター 20
図 2.9　Aggregation Index（AI）の概念図 21
図 2.10　電子線の飛跡の説明図 22
図 2.11　電子線の飛跡の比較 23
図 2.12　電子線内エネルギー付与と、クラスター内エネルギー付与の頻度分布 25
図 2.13　クラスターの root-mean-square radius（RMSR）の頻度分布 26
図 2.14　クラスター内エネルギー付与数と、AI 値の関係 27
図 2.15　電子線入射エネルギーと Aggregation index（AI）の関係 29
図 2.16　単位エネルギー当たりのクラスター数の入射エネルギー依存性 30
図 2.17　10keV 電子線から生じた OH ラジカルの二点間距離の経時的変化 31
図 3.1　Friedland らが用いた DNA モデル 38
図 3.2　SSB と DSB の初期電子エネルギー依存性 39
図 3.3　AI と DSB 効率の電子線入射エネルギー依存性の比較 41
図 3.4　クラスター内エネルギー付与イベント数とクラスター内 DSB 数の関係 42
図 3.5　クラスター内 DSB 効率の分布 43
図 3.6　左：30keV の電子線のエネルギー付与の空間分布 44
　　右：DBSCAN アルゴリズムで抽出したクラスターの分布
図 4.1　光子と物質の相互作用 47
図 4.2　光子と水の相互作用断面積 48
図 4.3　光子線照射の幾何学的条件 50
図 4.4　乳腺撮影用 28kVp X 線（Mo/Mo）のエネルギースペクトル 51
図 4.5　200kVp X 線のエネルギースペクトル 51
図 4.6　Linac 用 6MV X 線のエネルギースペクトル 52
図 4.7　光子線の照射により生じる DSB 54
図 4.8　光子線照射による DSB 発生数推定の流れ図 55

図 4.9　28kVp X 線の二次電子スペクトル……57
図 4.10　200kVp X 線の二次電子スペクトル……57
図 4.11　Co-60 γ線の二次電子スペクトル……58
図 4.12　リニアック用 6MV X 線の二次電子スペクトル……58
図 4.13　二次電子で生成される DSB 数の分布と実験値の比較……61

表目次

表 1.1　DRLs 2015 の線量指標 1
表 2.1　ラジカルの拡散係数と RMS distance 13
表 2.2　化学種の反応 14
表 4.1　EGS5 コードが取り扱う物理過程とデータ 49
表 4.2　乳房撮影用 X 線の RBE 62
表 4.3　放射線治療用 X 線の RBE 62

第１章

序章

1.1　研究背景

現在、医療において放射線による診断や治療は欠かすことのできないものとなっている[1-3]。一方で、放射線診療による患者被ばく（医療被ばく）ががんリスクを増加させるという疫学調査の結果が報告されている[4-8]。2011 年の福島第一原発の事故以降、医療被ばくを含む放射線が人体に及ぼす影響に対する関心が高まり、放射線障害のメカニズムの解明が重要な研究課題となっている。

1.1.1　医療用放射線

放射線が人体に影響を与えることは古くから知られているが[9]、医療被ばくには患者の生命を脅かす病気を克服できるという明らかな便益があるため、職業被ばくのような線量限度は設けられていない[10]。そのためそれぞれの診療に対応した判断が求められる。診断用放射線にはその対策の一つとして、防護の最適化を行う指標である、診断参考レベル Diagnostic Reference Level (DRL)がある[11]。我が国では DRL を設定するため、関連学会の協力のもとに、医療被ばく研究情報ネットワーク Japan Network for Research and Information on Medical Exposures (J-RIME) が発足され、2015 年 4 月に CT、一般撮影、マンモグラフィ、口内法 X 線撮影、IVR、核医学の診断参考レベルの値（DRLs 2015）が承認された[12]。DRL は「調査のためのレベルの一種であり、容易に測定される量、通常は空気中の吸収線量、あるいは単純な標準ファントムや代表的な患者の表面の組織等価物質における吸収線量に適用される」と定義され[11]、DRLs 2015 では各モダリティに表 1.1 に示す線量指標が用いられた。DRL の決定は、国内施設のサーベイ調査に基づき行われた。検査別にあらかじめ標準化された方法により施設ごとに線量測定を行い、基本的にその線量分布の第 3 四文位点に相当する線量をガイドライン値として採用した。線量分布上位 25%に入る施設には、照射条件の見直しが求められる。概して DRL は高い線量で検査を行っている施設を特定するために使われるツールであり、生物学的影響を推定するための指標ではないことに注意しなければいけない。

表 1.1　DRLs 2015 の線量指標

モダリティ	線量指標	モダリティ	線量指標
CT	$CTDI_{vol}$(mGy)、DLP(mGy・cm)	IVR	透視線量率(mGy/min)
一般撮影	入射表面線量(mGy)	口内法 X 線撮影	患者入射線量(mGy)
マンモグラフィ	平均乳腺線量(mGy)	核医学	平均実投与量(MBq)

1.1.2　細胞レベルの放射線による生物学的影響

電離放射線 ionizing radiation は電離作用をもつ電磁波や粒子であり、一般には単に放射線と呼ばれる。一次放射線 primary radiation が生体に入射すると、生体構成分子と衝突して二次電子 secondary electron を放出する。体内で発生した二次電子は生体構成分子と非弾性散乱（電離・励起）や弾性散乱を繰り返し、エネルギーを付与しながら細胞中を進んでいく（図 1.1）。また二次電子のエネルギー付与が細胞核内で起こると DNA に損傷を引き起こす。二次電子による DNA 損傷の発生経路は、直接 DNA 二本鎖を電離する直接作用 direct effect と、電子が細胞核内水分子を電離又は励起して OH ラジカルを発生させ、OH ラジカルが DNA に損傷を与える間接作用 indirect effect がある[15]。さらに DNA 二本鎖（約 2nm 幅）の両鎖で DNA 一本鎖切断が生じたとき、DNA 二本鎖切断 Double-Strand Breaks（DSB）となる。2 つの SSB の間隔が 数 bp 以内のならば、DSB となることが報告されている[16]。DSB 発生率を推定するシミュレーション計算では 10bp（3.4nm）に設定することが多い[17,18]。

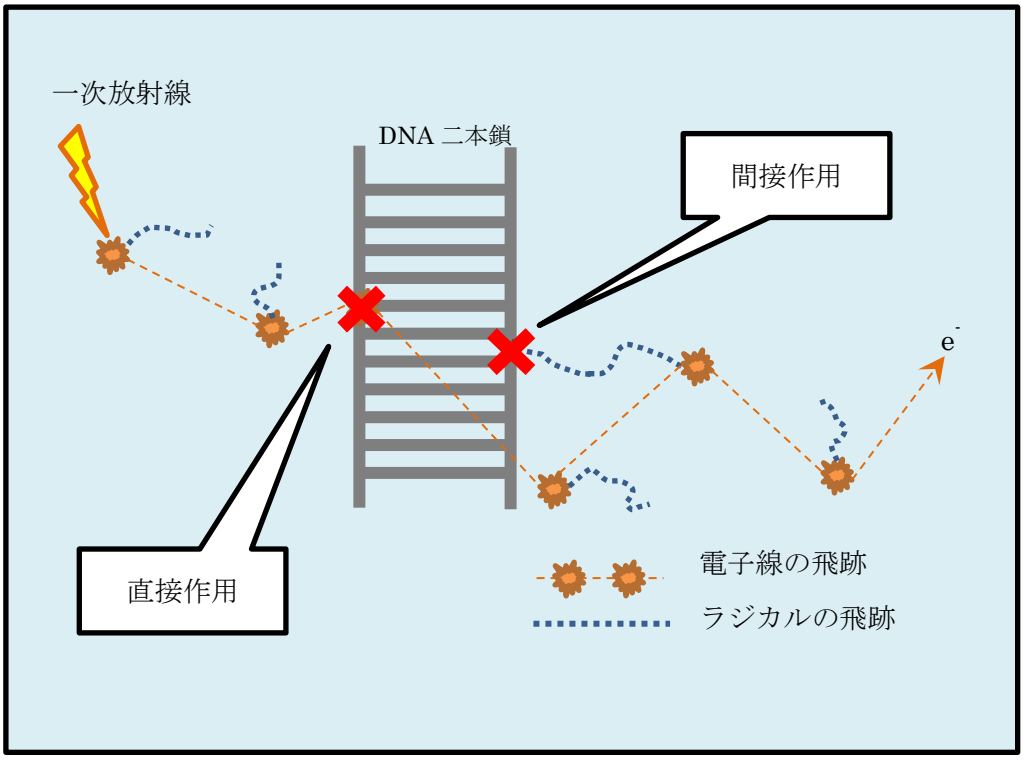


図 1.1　生体内の二次電子の挙動と DNA 損傷。二次電子の飛程は入射エネルギーで変動し、10keV で 2.46μm、100keV で 0.141mm、1000keV で 4.373mm 程度[13]、生体内の OH ラジカルの拡散距離は、電子の飛程と比べて短く、6nm 程度である[14]。

放射線の生物学的影響である発がんや染色体異常、細胞死は DSB に由来して発生するため、DSB の発生や修復について解析することは放射線の生物学的影響を調べるうえで重要であり、細胞実験[19-22]やモンテカルロ法（MC 法）を用いたシミュレーション[23,24]が行われている。DSB の生成効率は生体を通過する放射線の電離密度が関係しており[25]、電離密度を表す単位には、線エネルギー付与 Linear Energy Transfer（LET）や線エネルギー lineal energy（y）、比エネルギー specific energy（z）が用いられ、それぞれは次式で与えられる。

$$\mathrm{LET} = \frac{\mathrm{dE}}{\mathrm{dl}} \tag{1.1}$$

$$\mathrm{y} = \frac{\varepsilon}{\langle l \rangle} \tag{1.2}$$

$$\mathrm{z} = \frac{\varepsilon}{\mathrm{m}} \tag{1.3}$$

ここでdEは荷電粒子が距離dlを通過中に失ったエネルギー、εはエネルギー吸収量として着目する領域（site）中の吸収エネルギー、$\langle l \rangle$は site の平均弦長、mは site の質量を表す。単位は LET と y が[keV/μm]、z は吸収線量と同じ[Gy] = [J/kg] が用いられる。線エネルギーや比エネルギーは微視的領域の線量分布の評価に用いるが、site のサイズで評価値が変動するため、評価対象（DNA、染色体、細胞）のサイズに合わせて site を設定する必要がある。

1.1.3　マイクロドシメトリー

マクロレベルの電離放射線の検出は、検出器の有感体積中の電離数の計測、またはその他の放射線効果（フリーラジカル数や染色体異常数など）の定量的評価の特性に基づいている[26]。しかし電離放射線は電離や励起を引き起こしながら離散的にエネルギーを付与するために、ミクロレベル、すなわち分子や細胞核オーダーでは、電離放射線のエネルギー付与の空間分布は均一ではない。検出部の質量中の吸収エネルギーに対するシグナルの値で定義される検出器の応答は、検出部を通過する放射線の飛跡中の電離の局所的又は微視的分布に関係している。したがって検出器の質量あたりの平均吸収エネルギーと測定されるシグナルの関係を説明するうえで、吸収線量や LET の妥当性は制限される。

ミクロスケールのエネルギー付与の変動、又はこの変動による物理的及び生物学的作用の変化はマイクロドシメトリーという概念で説明することができ、物理量には、上述した線エネルギーや比エネルギーが用いられる。マイクロドシメトリーの研究は、放射線生物学、放射線防護、放射線治療分野で行われている。古典的には Microdosimetric model[27] や track structure model[28]が、放射線防護（mutations や chromosome aberrations）や放射線治療（cell survival）で使用される生物学的エンドポイントを用いて、異なる線質の生物学的効果を比較するために発展した。エネルギー付与の微視的分布は組織等価比例計数管 tissue-equivalent proportional counter（TEPC）により決められた。検出器の有感体積には低圧で組織等価ガスが充填され、その領域を放射線が通過してエネルギーを付与

することにより誘発される波高分布が測定される。生体組織中の放射線の挙動を理解するために DNA スケール（1-100nm 程度のターゲット）の放射線相互作用に関する情報が必要であることが 1970 年代明らかになってきた[29]。しかし当時の TEPC は 250nm より小さいターゲット中のエネルギー付与を測定することができなかった。そしてこれがナノスケールのエネルギー付与を研究することを目的とした MC 法によるトラック構造解析の発展につながった[30-31]。

1.1.4　放射線による生物学的影響解析の現状と課題

放射線照射後の電気泳動法や DSB 修復タンパクを用いた DSB の特性については多くの詳細な研究が報告されている[32-34]。一方で細胞内の DNA 損傷を直接観察することは大変困難である。そのため放射線の影響を調査するうえで DSB の発生位置や数量を推定する電子輸送シミュレーションが特に重要となってくる。DNA 損傷のシミュレーションが始められた頃は、図 1.2 のようにクロマチンファイバーの断片に模擬した円柱など単純な構造物と重複する放射線トラックを、水中にランダムに配置して、構造物内のエネルギー付与が計算された[35-37]。これにより種類やエネルギーの異なる放射線によるエネルギー付与の違いが研究された。このようなシミュレーションは低 LET 放射線と高 LET 放射線の効果の違いを理解するために重要な役割があった。その後シミュレーションは放射線ターゲットの条件をより詳細にすることを目指して進展した。Friedland らは DNA の分子構造をモデリングして、より実物に近い DNA モデルを導入し、放射線の物理的過程と化学的過程を考慮した PARTRAC code の開発をした。このコードの DNA モデルは DNA や chromosome、クロマチンの構造が含まれている。DNA の幾何学的構造を導入することで、直接作用と間接作用を区別や、DNA 損傷の複雑性を評価でき、結果として DNA 断片の長さが求められるようになった。しかしこのような DNA 構造の完璧なモデルを導入することは、途方もないコンピューターの処理能力と時間が必要となることが問題であった。また放射線の二次電子による細胞内の微視的エネルギー付与と生物学的影響をシンプルに直接結び付けるモデルも報告されていない。

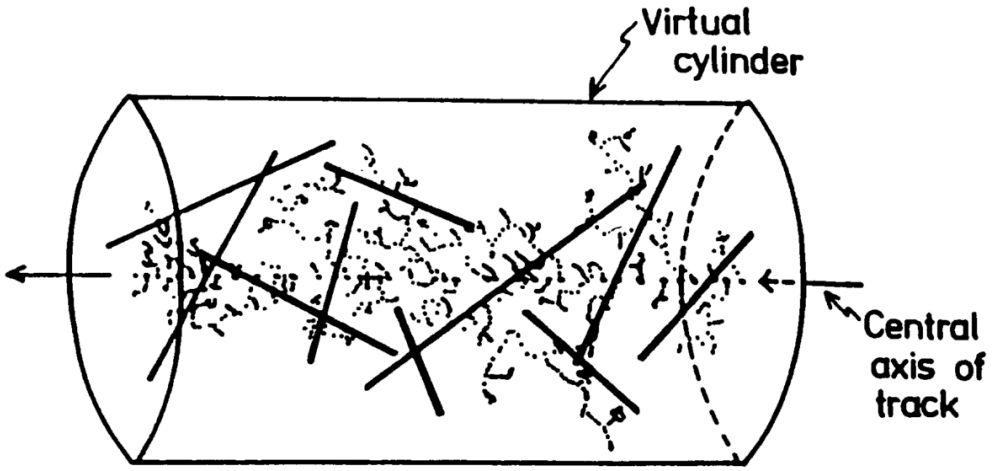


図 1.2　MC 法の幾何学的条件の模式図。MC 法により求められた放射線トラックとランダムに配置した DNA 構造を模した円柱（参考文献[35]の図 3 を引用）。

1.2　本研究の位置づけと論文構成

本論文は、筆者が北海道大学大学院保健科学院・保健科学コースにて行った、「放射線粒子輸送シミュレーションによる DNA 二本鎖切断数の推定」に関する研究の成果をまとめたものである。

医療分野の放射線利用が拡大し、これに伴い医療被ばくによる影響の解明が求められていることは先述の通りである。診療用放射線は放射線治療の一部を除き、光子線（X 線、γ線）が用いられており、医療被ばくの大部分は光子線によるものである。光子線による生物学的影響の明らかにすることは、放射線診療を受ける患者の不安の軽減につながるだろう。光子線による生物学的影響の解析を実現する手法として MC 法によるシミュレーションが有望視されるが、一方で次のような課題を抱えていた。

１．ミクロレベルのエネルギー付与は不均一であるため、評価体積の大きさにより物理的指標が変動する。

２．DNA 損傷の発生を推定するための物理的過程、化学的過程の計算に多大な時間を要する。

３．光子線の物理的指標と生物学的指標を直接的に関連付けるモデルが確立されていない。

図 1.3 に論文構成を示す。本研究では上述の諸問題に対して、次のようにして解決を試みた。まず物理的指標に対して、電子線の微視的エネルギー付与が均一ではないことに着目し、エネルギー付与の凝集度を定量した新しい指標を提案した（２章）。次に新しい物理的

指標と電子線による DSB 発生を直接結びつけるシンプルなモデルを構築し、妥当性を検証した（３章)。最後にシンプルなモデルを医療用 X 線へ応用し、医療被ばくで生じる DSB の発生を解析した（４章)。５章では結論と題して各章での研究成果についてまとめ、さらに今後の研究課題を述べた。

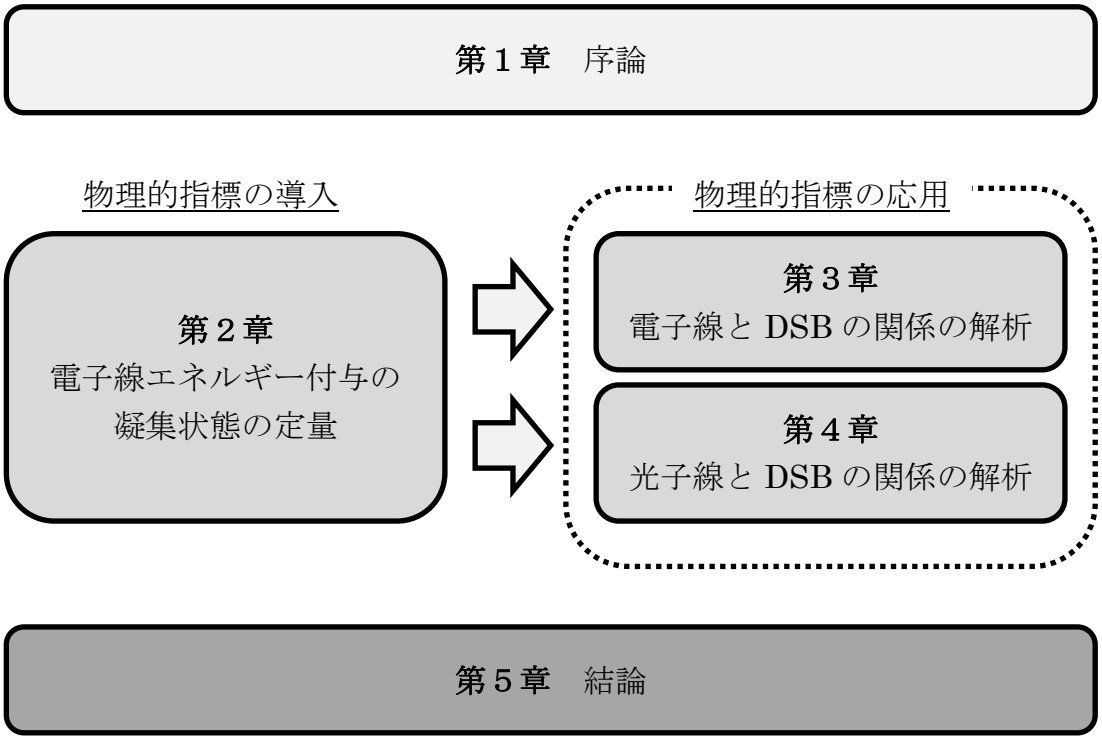


図 1.3　論文構成

参考文献

[1] 小児がん診療ガイドライン　2011 年版. (2011) 日本小児がん学会編. 金原出版.

[2] 科学的根拠に基づく乳癌診療ガイドライン ①治療編 2013 年版. (2013). 日本乳癌学会編. 金原出版.

[3] 科学的根拠に基づく乳癌診療ガイドライン ②疫学・診断編 2013 年版. (2013). 日本乳癌学会編. 金原出版.

[4] Andrieu, N., Easton, DF., Chang-Claude, J., Rookus, MA., Brohet, R., Cardis, E., et al. (2006). Effect of chest X-rays on the risk of breast cancer among BRCA1/2 mutation carriers in the international BRCA1/2 carrier cohort study: a report from the EMBRACE, GENEPSO, GEO-HEBON, and IBCCS Collaborators' Group. Journal of clinical oncology, 24(21), 3361-3366.

[5] Eisenberg, MJ., Afilalo, J., Lawler, PR., Abrahamowicz, M., Richard, H., & Pilote, L. (2011). Cancer risk related to low-dose ionizing radiation from cardiac imaging in patients after acute myocardial infarction. Canadian Medical Association Journal, 183(4), 430-436.

[6] Pijpe, A., Andrieu, N., Easton, DF., Kesminiene, A., Cardis, E., Noguès, C., et al. (2012). Exposure to diagnostic radiation and risk of breast cancer among carriers of BRCA1/2 mutations: retrospective cohort study (GENE-RAD-RISK). Bmj, 345.

[7] Pearce, M S., Salotti, JA., Little, MP., McHugh, K., Lee, C., Kim, KP., et al. (2012). Radiation exposure from CT scans in childhood and subsequent risk of leukaemia and brain tumours: a retrospective cohort study. The Lancet, 380(9840), 499-505.

[8] Mathews, J.D., Forsythe, A.V., Brady, Z., Butler, M. W., Goergen, S. K., Byrnes, G. B., et al. (2013). Cancer risk in 680 000 people exposed to computed tomography scans in childhood or adolescence: data linkage study of 11 million Australians. BMj, 346.

[9] 放射線医学史. (1973). 館野之男 著. 岩波書店.

[10] International Commission on Radiological Protection. (1991). 1990 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. ICRP Publication 60. Annals of the ICRP, 21(1-3).

[11] International Commission on Radiological Protection. (1996). Radiological Protection and Safety in Medicine. ICRP Publication 73. Annals of the ICRP, 26(2).

[12] 最新の国内実態調査結果に基づく診断参考レベルの設定. (2015). Japan Network for Research and information on medical Exposures.

[13] Nikjoo, H., Uehara, S., Emfietzoglou, D., & Pinsky, L. (2010). A database of frequency distributions of energy depositions in small-size targets by electrons and ions. Radiation protection dosimetry, ncq396.

[14] Roots, R., & Okada, S. (1975). Estimation of life times and diffusion distances of radicals involved in X-ray-induced DNA strand breaks or killing of mammalian cells. Radiation research, 64(2), 306-320.
[15] Lea, DE. (1955). Actions of radiations on living cells. The American Journal of the Medical Sciences, 229(6), 709.
[16] Hanai M. Yazu K. Hieda, R. (1998). On the experimental distinction between ssbs and dsbs in circular DNA. International journal of radiation biology, 73(5), 475-479.
[17] Nijoo, H, O'Neill, P., Goodhead DT,. and Terrissol, M. (1997). Computational modelling of low-energy electron-induced DNA damage by early physical and chemical events. International journal of radiation biology, 71(5), 467-483.
[18] Friedland, W., Jacob, P., Paretzke, H. G., & Stork, T. (1998). Monte Carlo simulation of the production of short DNA fragments by low-linear energy transfer radiation using higher-order DNA models. Radiation research, 150(2), 170-182.
[19] Belyaev, I Y. (2010). Radiation-induced DNA repair foci: Spatio-temporal aspects of formation, application for assessment of radiosensitivity and biological dosimetry. Mutation Research/Reviews in Mutation Research, 704(1), 132-141.
[20] Tobias, F., Durante, M., Taucher-Scholz, G., & Jakob, B. (2010). Spatiotemporal analysis of DNA repair using charged particle radiation. Mutation Research/Reviews in Mutation Research, 704(1), 54-60.
[21] Valdiglesias, V., Giunta, S., Fenech, M., Neri, M., & Bonassi, S. (2013). γH2AX as a marker of DNA double strand breaks and genomic instability in human population studies. Mutation Research/Reviews in Mutation Research, 753(1), 24-40.
[22] Mladenov, E., & Iliakis, G. (2011). Induction and repair of DNA double strand breaks: the increasing spectrum of non-homologous end joining pathways. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 711(1), 61-72.
[23] Friedland, W., Dingfelder, M., Kundrát, P., & Jacob, P. (2011). Track structures, DNA targets and radiation effects in the biophysical Monte Carlo simulation code PARTRAC. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 711(1), 28-40.
[24] Taleei, R., Girard, P M., & Nikjoo, H. (2015). DSB repair model for mammalian cells in early S and G1 phases of the cell cycle: Application to damage induced by ionizing radiation of different quality. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 779, 5-14.
[25] Prise, K M. (1998). A review of DSB induction data for varying quality radiations. International journal of radiation biology, 74(2), 173-184.

[26] Walig´orski. MPR. (1988). A Model of Heavy Ion Detection in Physical and Biological Systems. Habilitation, Institute of Nuclear Physics, Krakow, Poland.
[27] Kellerer, A M., & Rossi, HH. (1974). The theory of dual radiation action. Current Topics in Radiation Research Quarterly, 85-158.
[28] Katz, R., & Sharma, SC., (1973). Response of cells to fast neutrons, stopped pions, and heavy ion beams. Nuclear Instruments and Methods, 111(1), 93-116.
[29] Goodhead, DT., Thacker, J., (1977). Inactivation and mutation of cultured mammalian cells by aluminium characteristic ultrasoft X-rays. I. Properties of aluminium X-rays and preliminary experiments with Chinese hamster cells. International Journal of Radiation Biology, 31(6), 541-59.
[30] Paretzke, HG., (1988). Radiation Track Structure Theory in Kinetics of Nonhomogeneous Processes. GR. Freeman, Ed., John Wiley & Sons, New York
[31] Nikjoo, H., Uehara, S. and Brenner, D. (1997). Track Structure calculations in radiobiology: how can we improve them and what can they do? In Proc. 12th Symposium on Microdosimetry, Oxford UK 29th Sept. - 4th Oct. 1996, pp.3-10
[32] Kühne, M., Urban, G., Frankenberg, D., & Löbrich, M. (2005). DNA double-strand break misrejoining after exposure of primary human fibroblasts to CK characteristic x rays, 29 kvp x rays and 60Co γ rays. Radiation research, 164(5), 669-676.
[33] De Lara, CM., Hill, MA., Jenner, TJ., Papworth, D., & O'Neill, P. (2001). Dependence of the yield of DNA double-strand breaks in Chinese hamster V79-4 cells on the photon energy of ultrasoft X rays. Radiation research, 155(3), 440-448.
[34] Hamada, N., Schettino, G., Kashino, G., Vaid, M., Suzuki, K., Kodama, S., et al. (2006). Histone H2AX phosphorylation in normal human cells irradiated with focused ultrasoft X rays: evidence for chromatin movement during repair. Radiation research, 166(1), 31-38.
[35] Charlton, DE., Nikjoo, H., & Humm, JL. (1989). Calculation of initial yields of single-and double-strand breaks in cell nuclei from electrons, protons and alpha particles. International Journal of Radiation Biology, 56(1), 1-19.
[36] Nikjoo, H., Charlton, DE., & Goodhead, DT. (1994). Monte Carlo track structure studies of energy deposition and calculation of initial DSB and RBE. Advances in space Research, 14(10), 161-180.
[37] Friedland, W., Jacob, P., Paretzke, HG., & Stork, T. (1998). Monte Carlo simulation of the production of short DNA fragments by low-linear energy transfer radiation using higher-order DNA models. Radiation research, 150(2), 170-182.

第２章

電子線による電離・励起事象の凝集特性を解析するモデルの開発

2.1　はじめに

放射線（一次放射線）が生体に照射されると電離作用により電子線（二次電子）が発生し、二次電子は直接的、又はラジカルを経由して間接的に DNA に損傷を与える[1]。そのため放射線の生物学的影響を調査するうえで、入射放射線（一次放射線）によって生体中に発生する電子線の動態を解析することが重要である。

放射線による生物学的影響は、放射線のエネルギー付与分布の違いにより変化すること知られている。現在、エネルギー付与分布の指標は、線エネルギー付与 linear energy transfer （LET）や線エネルギー lineal energy （y)、比エネルギー specific energy（z）が用いられている[2-4]。これらは空間領域（長さや体積質量）あたりのエネルギー付与で定義される一方、電子線の飛跡は非直線構造・非球体構造であるため、評価値は、空間のサイズに依存して変動することが報告されている[5-7]。

本研究は飛跡の形状に依存しない指標 Aggregation Index（AI）を使って、電子線のエネルギー付与分布を評価した。AI はイベント事象の二点間距離に注目した指標である。

2.2　物理モデル

2.2.1　電子線と水の相互作用

電子線は物質を通過すると、主に非弾性散乱（inelastic collision）により物質中の軌道電子と電離あるいは励起して、運動エネルギーを失う衝突損失（collision loss）と、原子核の近傍を通過するとき、原子核のクーロン力によって進行方向を曲げられ、電子が加速度運動を受けることにより電磁波（制動放射線：bremsstrahlung）を放出して運動エネルギーを失う放射損失（radiation loss）の２つのエネルギー損失過程がある。２つの過程の発生割合は

$$\frac{\text{放射損失}}{\text{衝突損失}} \approx \frac{EZ}{820} \qquad (2.1)$$

で表される。ここで E は電子の全エネルギー（静止質量エネルギー＋運動エネルギー）（MeV)、Z は電子線が通過する物質の原子番号である。放射損失と衝突損失の発生割合が同じとなるエネルギーを臨界エネルギー（critical energy）という。

生体の大部分は水分子で占められているため、生体中の電子線の主な相互作用の対象は

水分子であり、医療用 X 線を人体に照射したときに発生する二次電子は、大部分のエネルギーが衝突損失により失われる。ミクロレベルでみると、１本の電子線が物質を通過すると、図 2.1 のように電離や励起（黒点）を繰り返す。電離が起こると新たな電子線が生成され、同様に電離や励起を繰り返す。この連鎖的な反応は各電子線の運動エネルギーが電離や励起の閾エネルギー以下になると停止する。ここではこのようなエネルギー付与事象の集合を電子線トラックと呼ぶ。電子線トラックの長さは電子線の運動エネルギーで変わり、電子線の運動エネルギーが低くなると電離間の飛跡が短くなり、1keV 未満になると散乱方向が等方性に近づく。そのため電離や励起が密集した分布となり、この領域は spur（-100eV、2nm）や blob（100-500eV、7nm）などと呼ばれる[8,9]。その大きさは DNA 二本鎖構造（2nm）と同程度であるため、細胞内の DNA 構造と spur や blob が重複、隣接する領域は直接作用または間接作用で DNA 損傷が発生しやすいと古くから考えられている[10,11]。

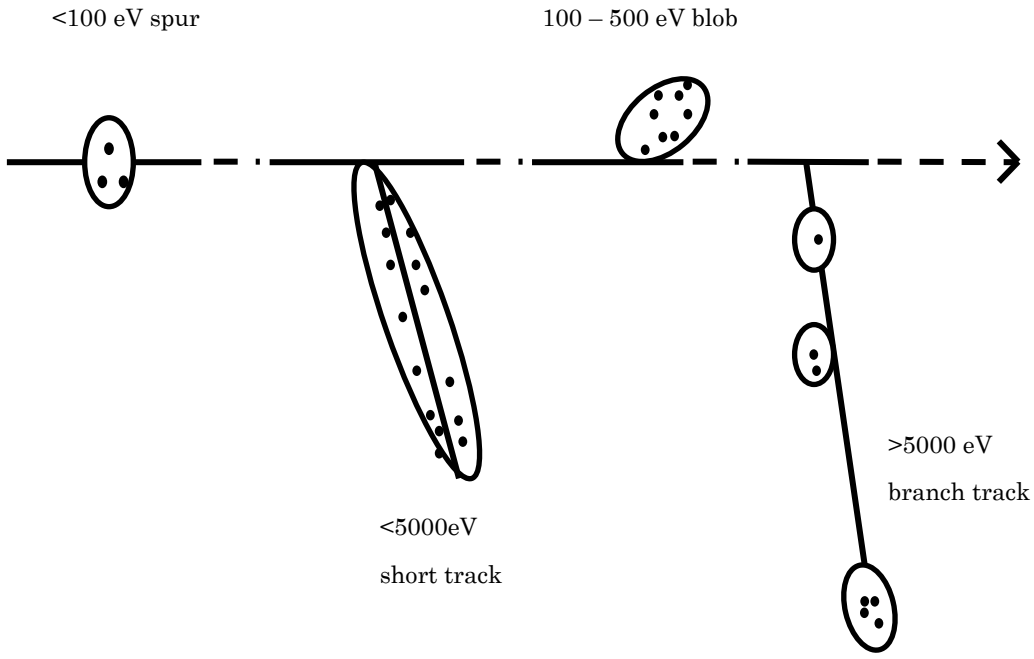


図 2.1　電子線の飛跡の模式図

2.2.2　化学的過程

水分子は電子との衝突によって電離や励起が引き起こされ、図 2.2 のような経路を経て、水分子から OH ラジカル等の不安定で反応性が高いラジカル（化学種）となる。ラジカルは媒質中を熱運動によりランダムウォークをするため、ラジカルの移動は単位時間ごとの“jump”として扱える。このときフィックの第一法則より jump time τ のとき root mean square (RMS) distance λ は以下の式で表される。

$$\lambda = \sqrt{6D\tau} \qquad (2.2)$$

ここで D はラジカルの拡散係数であり、実験的に求められる[12]。表 2.1 にラジカルの拡散係数と RMS distance（$\tau = 1$）を示す。拡散を繰り返し、ラジカル同士が反応半径（reaction radius）a の 2 倍よりも短い距離に近づいたときに反応が起こると仮定しうる。反応半径は

$$\mathrm{a} = \frac{k}{4\pi(D_A + D_B)} \qquad (2.3)$$

と表され、反応ごとの反応半径を表 2.2 に示す。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、k は反応速度定数である。

純水中でラジカルが生成されると拡散や反応を繰り返し、10^{-6} 秒経過するとラジカルは系内に均一に分布する。しかし、細胞はラジカルと反応し消去する物質を含んでおり、例えば、アスコルビン酸やグルタチオンは OH ラジカルと反応する。このような物質を捕捉剤（scavenger）といい、生体内の OH ラジカルの拡散は 6nm 程度に抑えられる[13]。一般的に二種類の化学種の反応は二次反応となるが、生体中の捕捉剤はラジカルに対して十分に多いので、捕捉反応はあたかも片方の化学種の濃度にのみ反応速度が比例しているように振舞う（擬一次反応）。そのため捕捉が起こる時間スケールは速度定数 k と捕捉剤濃度[S]の積 k[S]である捕捉能（scavenging capacity）で決まり、捕捉対象ラジカル A の濃度[A]の時間変化は

$$[A] = [A_0]\exp(-k[S]t) \qquad (2.4)$$

で表現できる。$[A_0]$は時間ゼロの時の捕捉対象ラジカル A の濃度を示す。細胞核内の OH ラジカルの捕捉能は 4×10^{8} [s^{-1}]程度なので[13]、(2.4)式より生体内の OH ラジカルの平均寿命は 2.5×10^{-9} 秒程度となる。

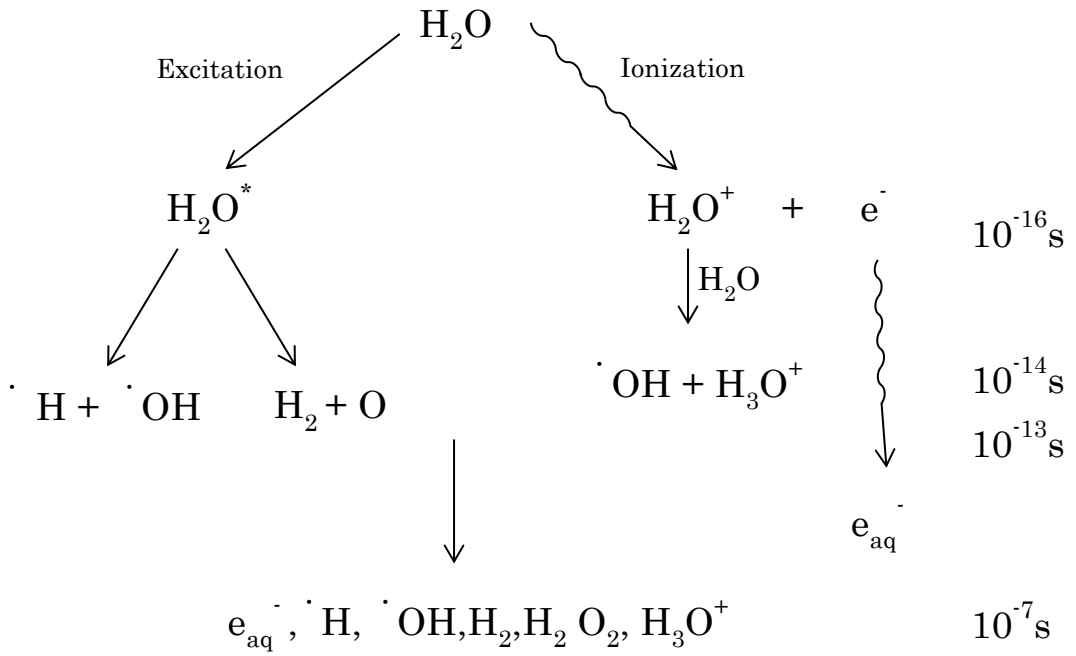


図 2.2　放射線エネルギーによる水の分解

表 2.1　ラジカルの拡散係数と RMS distance [12]

化学種	拡散係数 $D(10^{-9}m^2s^{-1})$	RMS distance λ(nm)
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 2.2　化学種の反応[12]

反応（A＋B）	生成物	反応速度定数 k	反応半径 a(nm)
$OH + OH$	$\dashrightarrow H_2O_2$	0.6	0.1416
$OH + e^-_{aq}$	$\dashrightarrow OH^-$	2.5	0.4525
$OH + H$	$\dashrightarrow H_2O$	2.0	0.2697
$OH + H_2$	$\dashrightarrow H$	0.0045	0.00076
$OH + H_2O_2$	$\dashrightarrow HO_2$	0.0023	0.00061
$OH + HO_2$	$\dashrightarrow O_2$	1.0	0.2753
$OH + O_2^-$	$\dashrightarrow O_2 + OH^-$	0.9	0.2427
$OH + HO_2^-$	$\dashrightarrow HO_2 + OH^-$	0.5	0.1376
$e^-_{aq} + e^-_{aq}$	$\dashrightarrow H_2 + 2OH^-$	0.55	0.0807
$e^-_{aq} + H$	$\dashrightarrow H_2 + OH^-$	2.5	0.2873
$e^-_{aq} + H_3O^+$	$\dashrightarrow H$	1.7	0.1664
$e^-_{aq} + H_2O$	$\dashrightarrow OH + OH^-$	1.3	0.2564
$e^-_{aq} + HO_2$	$\dashrightarrow HO_2^-$	2.0	0.4066
$e^-_{aq} + O_2$	$\dashrightarrow O_2^-$	1.9	0.3804
$e^-_{aq} + O_2^-$	$\dashrightarrow OH^- + HO_2^-$	1.3	0.2603
$H + H$	$\dashrightarrow H_2$	1.0	0.0944
$H + H_2O_2$	$\dashrightarrow OH$	0.01	0.00144
$H + HO_2$	$\dashrightarrow H_2O_2$	2.0	0.2936
$H + O_2$	$\dashrightarrow HO_2$	2.0	0.2904
$H + OH^-$	$\dashrightarrow e^-_{aq}$	0.002	0.00022
$H + O_2^-$	$\dashrightarrow HO_2^-$	2.0	0.2904
$H_3O^+ + HO^-$	$\dashrightarrow H_2O$	10.0	0.9439
$H_3O^+ + O_2^-$	$\dashrightarrow HO_2$	3.0	0.3571
$H_3O^+ + HO_2^-$	$\dashrightarrow H_2O_2$	2.0	0.2403
$HO_2 + HO_2$	$\dashrightarrow H_2O_2 + O_2$	0.000076	0.000025
$HO_2 + O_2^-$	$\dashrightarrow O_2 + HO_2^-$	0.0085	0.00274

2.3　電子輸送のモンテカルロシミュレーション

2.3.1　アルゴリズムの概要

モンテカルロシミュレーション（以下 MC 法）とは、乱数を扱うシミュレーション技法の総称である。電子輸送の MC 法は電子線を粒子でモデル化し、媒質中の原子と衝突反応をする電子線を追跡する手法で、飛行距離の決定、衝突反応の種類の決定、衝突後の進行方向の決定に乱数を用いる。この３つの過程を電子エネルギーがカットオフエネルギー以下になるまで繰り返すことにより電子線トラックの構造を計算する（図 2.3)。電子輸送の MC 法には、電離や励起等すべての衝突事象を考慮して計算を行う方法[14-19]と、多重散乱近似や連続減速近似により電子線の飛跡を近似して計算を行う方法[20-23]がある。前者は計算量が膨大になるが、詳細なエネルギー付与情報を取得できる利点がある。一方後者は計算量が軽減されるため、医療被ばくや環境被ばくの推定など幅広く利用されている。本研究は電子線によるナノスケールの微視的エネルギー付与の時空間解析を行うため、前者の MC 法を採用したコード WLTRACK を用いた。WLTRACK は伊達ら[24]により開発されたコードであり、線質は電子線（8.22eV～10MeV)、媒質は水のみである。次節から WLTRACK の飛行距離の決定、衝突反応の種類の決定、衝突後の進行方向の決定について説明する。

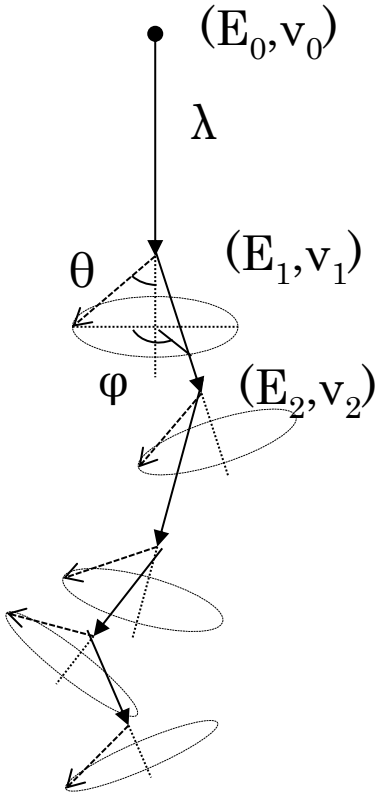


図 2.3　モンテカルロシミュレーションによる輸送計算

2.3.2　飛行距離の決定及び衝突断面積

電子の衝突から次の衝突までの距離（飛行距離）l は、

$$l = -\frac{\ln \xi}{\sigma_T N} \qquad (2.5)$$

と表される。σ_Tは全衝突断面積、Nはターゲットの数密度、ξは一様乱数$[0-1]$を表す。一様乱数とは一様分布に従う乱数である。WLTRACK コードで扱う全衝突断面積は全電離（total ionization）、全電子励起（electronic excitation）、弾性散乱（elastic collision）、振動励起（vibrational excitation）、解離性付着（dissociative attachment）で構成され、使用した断面積データは図 2.4 のとおりである。ここで全電離とは OH^+、O^+及び H_2O^+を生成する電離過程である。弾性散乱の断面積は Danjoo and Nishimura のデータ[28]を 1.4 倍し、Itikawa and Masson の全衝突断面積[30]と一致するように調整した。電離及び電子励起の閾エネルギーはそれぞれ 13.65eV、8.22eV である。

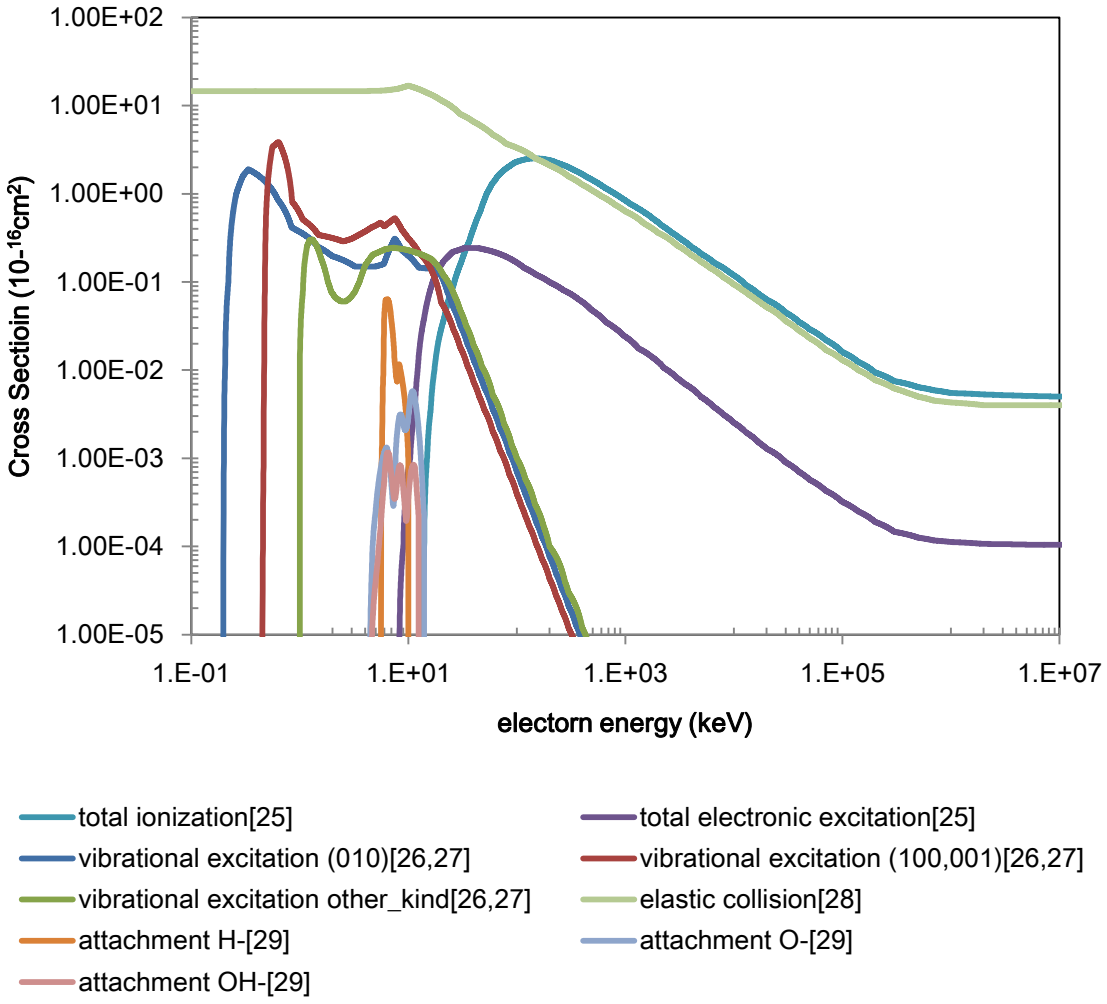


図 2.4　WLTRACK コードで使用した電子線の断面積データ

2.3.3　衝突反応の種類の決定

衝突反応の種類を電離（ionization）、励起（excitation）、弾性散乱（elastic collision）、解離性付着（dissociative attachment）の４種類としたとき、電子の運動エネルギーEに応じた各反応の断面積（$\sigma_{ion}(E)$、$\sigma_{exc}(E)$、$\sigma_{ela}(E)$）を

$$T_1 = \sigma_{ion}(E) \tag{2.6}$$

$$T_2 = T_1 + \sigma_{exc}(E) \tag{2.7}$$

$$T_3 = T_2 + \sigma_{ela}(E) \tag{2.8}$$

$$T_4 = T_3 + \sigma_{att}(E) \tag{2.9}$$

$$T = T_3 \times \xi \tag{2.10}$$

と置く。ξは一様乱数$[0-1]$を表す。このとき衝突反応の種類は図 2.5 のフローチャートに従い

$$T \leq T_1 \rightarrow K_{ion} \tag{2.11}$$

$$T_1 \leq T < T_2 \rightarrow K_{exc} \tag{2.12}$$

$$T_2 \leq T < T_3 \rightarrow K_{ela} \tag{2.13}$$

と与えられる。

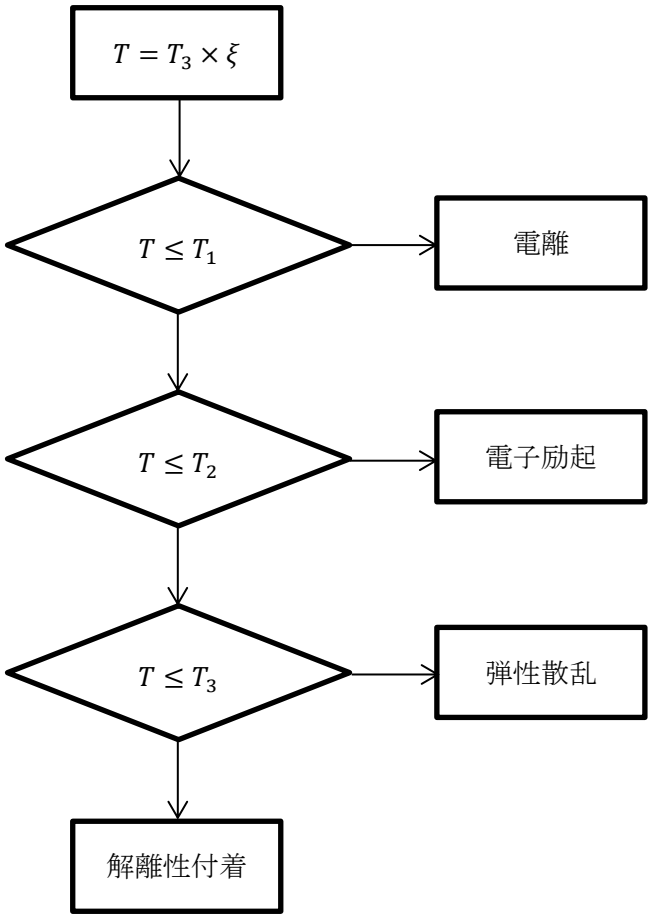


図 2.5　衝突反応の種類の決定の流れ図

2.3.4 衝突後の進行方向の決定

衝突後の電子の進行方向が変化する。衝突前の進行方向の単位ベクトルを、

$$\vec{v}_0 = \begin{bmatrix} v_{0_x} \\ v_{0_y} \\ v_{0_z} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \sin\theta_0 \cos\varphi_0 \\ \sin\theta_0 \sin\varphi_0 \\ \cos\theta_0 \end{bmatrix} \tag{2.14}$$

とし、衝突後に進行する方向のベクトルを

$$\vec{v}_1 = \begin{bmatrix} v_{1_x} \\ v_{1_y} \\ v_{1_z} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \sin\theta_1 \cos\varphi_1 \\ \sin\theta_1 \sin\varphi_1 \\ \cos\theta_0 \end{bmatrix} \tag{2.15}$$

とすると、衝突後のベクトルは

$$\vec{v} = \begin{bmatrix} v_x \\ v_y \\ v_z \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\partial v_{0_x}}{\partial\theta_0} & \frac{\partial v_{0_x}}{\partial\varphi_0} & \frac{\partial v_{0_x}}{\partial r} \\ \frac{\partial v_{0_y}}{\partial\theta_0} & \frac{\partial v_{0_y}}{\partial\varphi_0} & \frac{\partial v_{0_y}}{\partial r} \\ \frac{\partial v_{0_z}}{\partial\theta_0} & \frac{\partial v_{0_z}}{\partial\varphi_0} & \frac{\partial v_{0_z}}{\partial r} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} v_{1_x} \\ v_{1_y} \\ v_{1_z} \end{bmatrix}$$

$$\vec{v} = \begin{bmatrix} v_{0_x}\cos\theta_1 + \frac{1}{S_0}\left(v_{0_x}v_{0_z}\sin\theta_1\cos\varphi_1 - v_{0_y}\sin\theta_1\sin\varphi_1\right) \\ v_{0_y}\cos\theta_1 + \frac{1}{S_0}\left(v_{0_y}v_{0_z}\sin\theta_1\cos\varphi_1 + v_{0_x}\sin\theta_1\sin\varphi_1\right) \\ v_{0_z}\cos\theta_1 - S_0\sin\theta_1\cos\varphi_1 \end{bmatrix} \tag{2.16}$$

と表せる。θ_0、φ_0、θ_1、φ_1は球座標の電子の進行方向の角度、S_0は$\sin\theta_0$の逆数である。衝突前の電子が(θ_1, φ_1)方向に散乱する過程は、確率的であり、θ_1とφ_1はそれぞれ乱数により決定される。

2.3.5　電子線によるエネルギー付与とその二点間距離分布の関係

図 2.6 にミクロスケールの電子線のエネルギー付与の空間分布と、比較対象としてランダムに配置したイベント点（ポアソン配置：Poison configuration）を示す。電子線のエネルギー付与分布はポアソン配置と比べ、わずかにイベント点の偏りがみられ、不均等である。次にイベント間距離に着目し、電子線エネルギー付与（電離・励起）イベントとポアソン配置を比較した結果を図 2.7 に示す。イベントの二点間距離が 1000nm 以上は、電子線のエネルギー付与分布はポアソン配置と一致するが、1000nm 以下では電子線のエネルギー付与分布とポアソン配置との差が生じ、3nm 付近に極大値を持つ。この極大値は、電子線トラックのエネルギー付与の密集領域である spur（約 2nm）や blob（約 7nm）に起因したものである。電子線のエネルギー付与の二点間距離分布の 3nm 付近のデータは電子線トラックの微視的構造の特徴を反映した値となるため、電子線の空間分布を解析するうえで有用と考えられる。そこで本章では二点間距離に基づくクラスタリングアルゴリズムと、二点間距離に基づく凝集性を評価するための指標を導入し、ミクロレベルの電子線のエネルギー付与の空間分布を解析した。

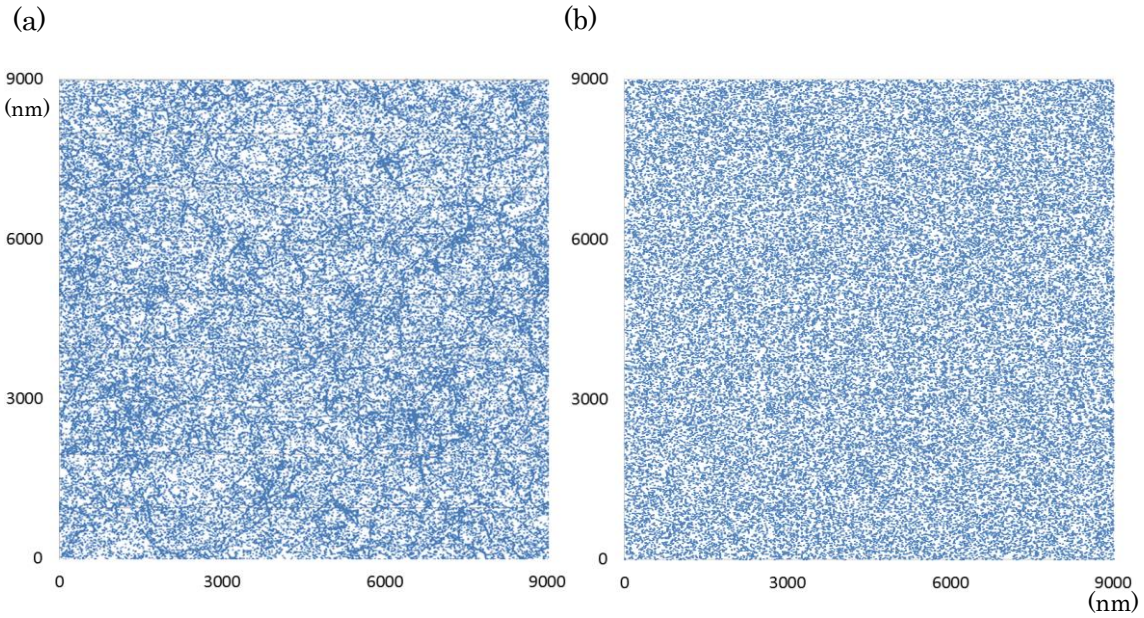


図 2.6　ミクロスケールのエネルギー付与分布。ターゲットは水である。(a)X 線照射(1Gy)で生じた二次電子のエネルギー付与分布。(b)（a）と同数のランダムな点の集合（ポアソン配置)。

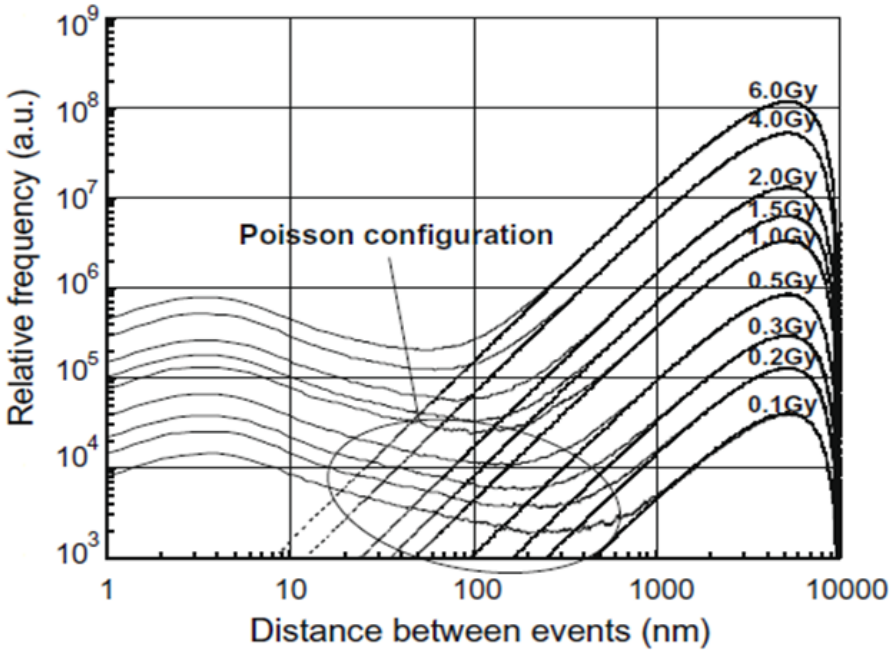
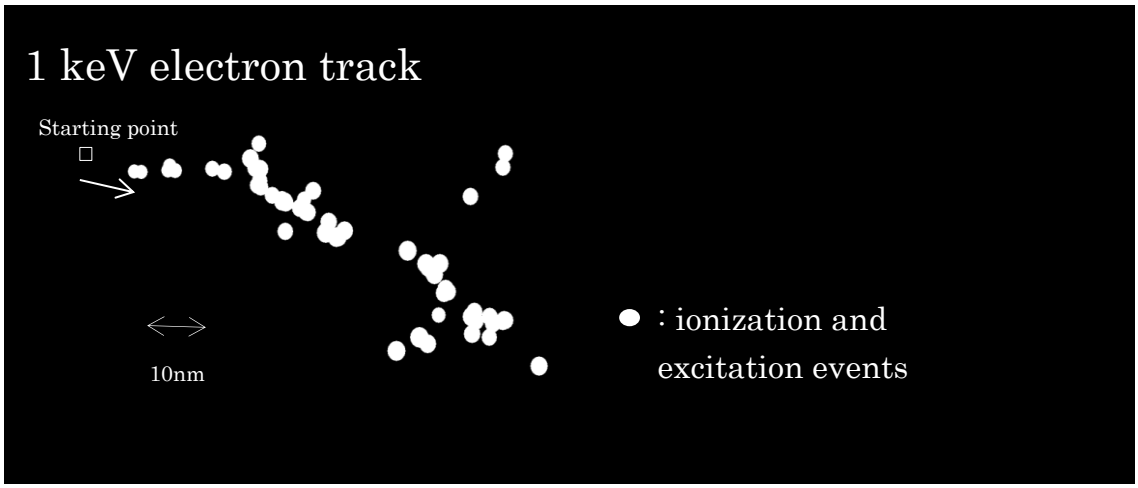


図 2.7　6MVX 線の二次電子のエネルギー付与とポアソン配置(Poisson configuration)の二点間距離分布の比較[31]。X 線のターゲットは細胞を想定した直径 10μm の球体を配置した水である。実線が二次電子のエネルギー付与分布の、点線がポアソン配置の二点間距離分布である。

2.3.6　電子線によるエネルギー付与のクラスタリング

WLTRACK コードで計算した、電子線のエネルギー付与の空間分布からエネルギー付与の密集領域を抽出するために Density-Based Spatial Clustering of Applications with Noise (DBSCAN) アルゴリズムを用いた。Ester によって開発されたこのアルゴリズム[32]は、データの二点間距離の関係に基づき、密度が高い領域を球体状ではない任意形状のクラスターとして抽出できる特徴を持つ(図 2.8)。入力パラメータは *MinPts* と *Eps*(ε) の２つである。本研究では *MinPts*=2、*Eps*=3.0nm 及び 10.0nm とした。

(a)



(b)

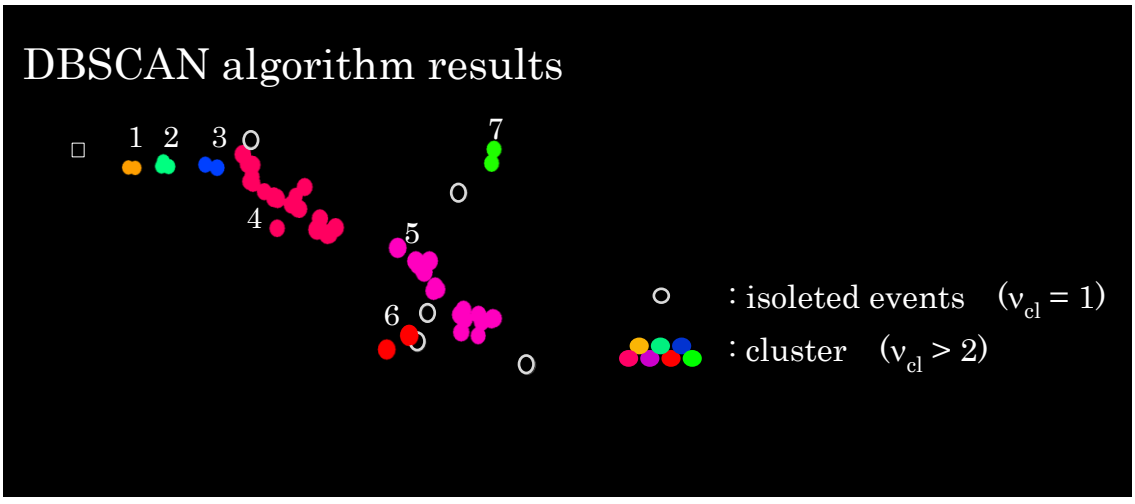


図 2.8　（a）電子輸送の MC 法により計算した 1keV 電子線（b）DBSCAN アルゴリズム（*Eps*=3nm、*MinPts*=2）により抽出したクラスター

2.3.7　エネルギー付与の凝集度（Aggregation Index：AI）

電子線による電離・励起によるエネルギー付与の凝集性を評価するために、Aggregation Index（AI）という指標を用いた。この指標は、これまで使用されてきた線エネルギー lineal energy の site のような領域を設けないため、エネルギー付与の密集領域の大きさや形に依存せず評価できるという特徴を持つ。図 2.9 に AI の概念図を示す。ある電離・励起事象間距離に閾値（上限値と下限値）を設定し、その閾値内の事象を“adjacent point（隣接点）”、その事象間の関係を“linkage”としたとき、AI は linkage の数で定義され[31]、AI 値は図 2.7 の二点間距離分布の閾値内の発生頻度の総和と等しい。本研究では、特に補足説明がないとき、AI パラメータの下限値は 0nm に設定したものとする。ここでは linkage で接続されたエネルギー付与の集合を spur や blob と区別するため、クラスターと呼ぶ。DBSCAN パラメータが *MinPts*=2、*Eps*=AI の上限値) のとき、DBSCAN アルゴリズムで抽出したクラスターは AI のクラスター（下限値=0nm）と一致する。

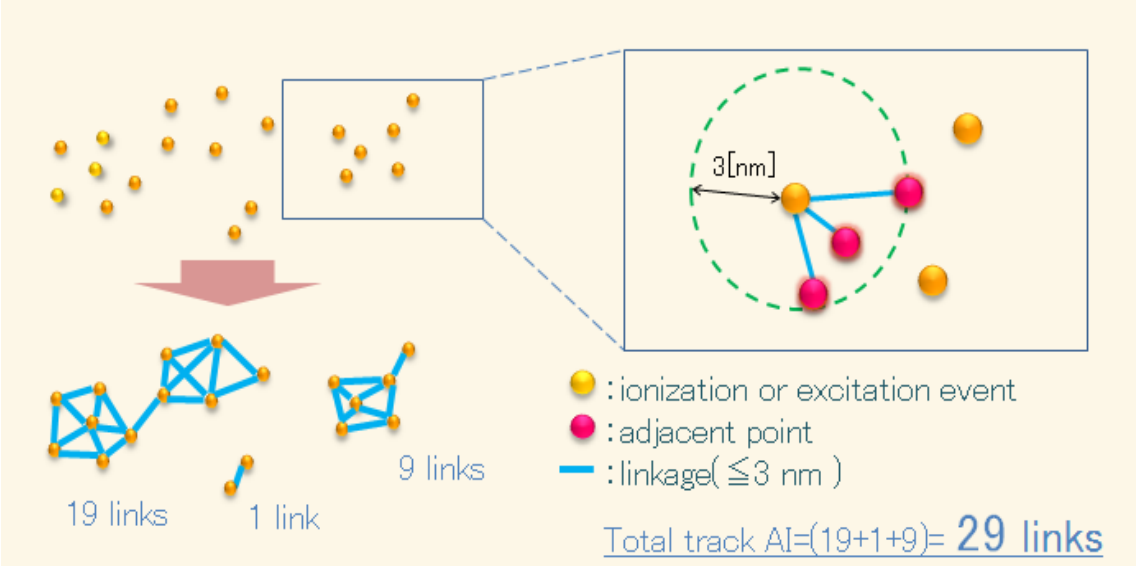


図 2.9　Aggregation Index（AI）の概念図

電子線トラックのエネルギー付与がν個のとき、AI 値は密集の度合いによって、

$$0 \leq \mathrm{AI} \leq \frac{\nu(\nu-1)}{2} \qquad (2.17)$$

の間で変動し、クラスター内電離・励起イベント数ν_{cl}のクラスター内の AI 値は

$$\nu_{cl} - 1 \leq \mathrm{AI} \leq \frac{\nu_{cl}(\nu_{cl}-1)}{2} \qquad (2.18)$$

となる。

2.4　電子線のエネルギー付与の空間分布解析

2.4.1　シミュレーションの妥当性の確認

電子線のエネルギー付与の空間分布を解析するにあたり、本シミュレーションのコードと断面積の妥当性を検証するため、電子線の飛跡（total path length と penetration length）を文献値と比較した。ここで total path length は、

$$L_t = \sum_{k=1}^{n-1} \sqrt{(x_{k+1} - x_k)^2 + (y_{k+1} - y_k)^2 + (z_{k+1} - z_k)^2} \quad (2.19)$$

であり、penetration length は

$$L_p = \sqrt{(x_1 - x_n)^2 + (y_1 - y_n)^2 + (z_1 - z_n)^2} \quad (2.20)$$

である（図 2.10）。カットオフエネルギーは 8.22eV とした。電子線の入射エネルギーは 20.0eV から 10MeV の間で計算を行った。比較データは total path length が ICRU report37（10keV 以上）と Semenenko ら（10keV 未満）のデータ[19,34]であり、penetration length は Uehara らのデータ[18]である。図 2.11 に電子線の total path length と penetration length のシミュレーション結果を示す。3keV 以上はエネルギーが増加するほど飛跡が増加し、3keV 以下では、飛跡はエネルギーの変動による飛跡の変化はわずかであった。シミュレーション結果は、total path length と penetration length ともに、文献値と非常によく一致した。このことより本研究で用いるシミュレーションコードと断面積は、水中を通過する電子線が付与するエネルギーの空間分布を計算するものとして妥当であることを確認した。

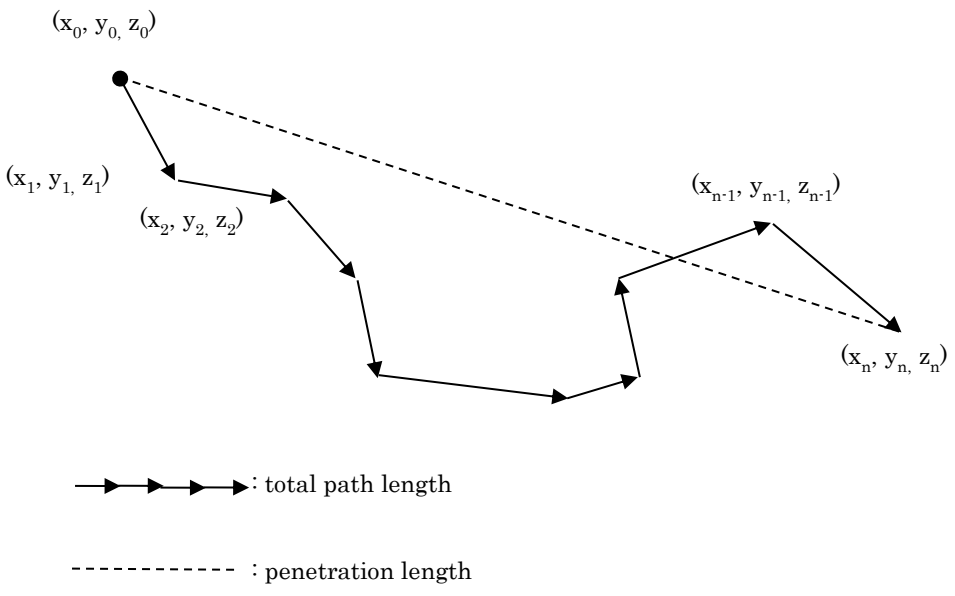


図 2.10　電子線の飛跡の説明図

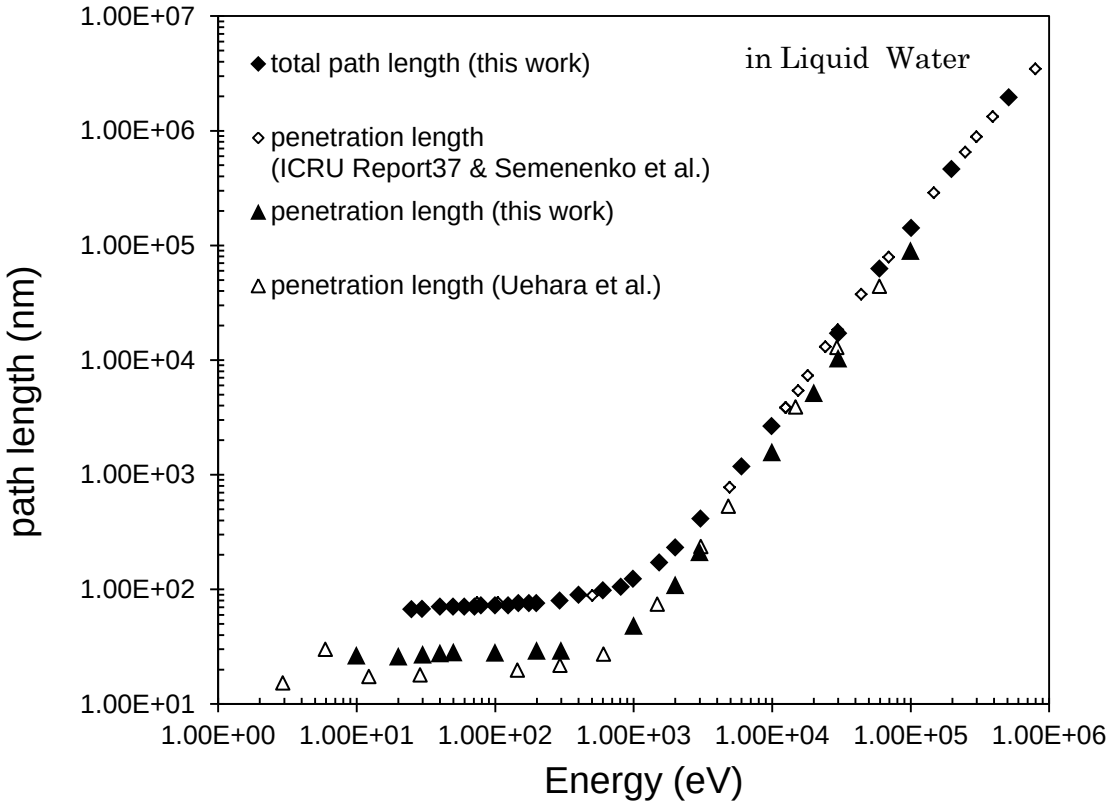


図 2.11　電子線の飛跡の比較

2.4.2　DBSCAN クラスターの特性

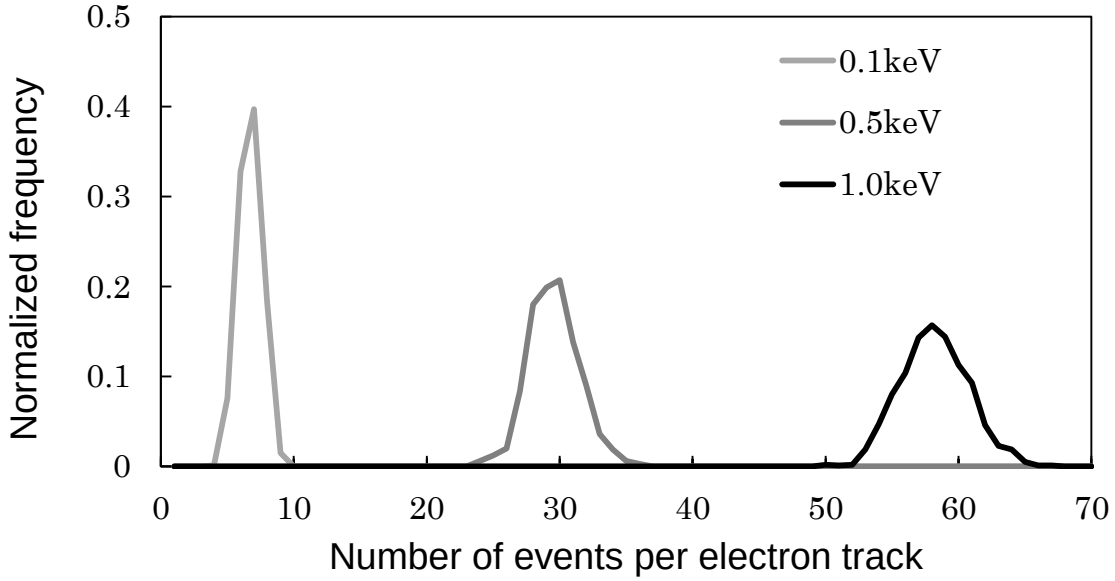
DBSCAN アルゴリズムで抽出したクラスターの特性を述べる。図 2.12 に MC 法で計算した 0.1keV～1.0keV の低エネルギー電子線のエネルギー付与の頻度分布と、その空間分布から DBSCAN アルゴリズムで抽出したクラスターのエネルギー付与の頻度分布を示す。0.1keV～1.0keV の電子線は、図 2.1 に示したように blob や short track と呼ばれるエネルギー付与が密集した領域を形成することが知られているエネルギー領域である。*Eps*=10nm、*MinPts*=2 のとき、クラスターの頻度分布は電子線のエネルギー付与の分布と一致した。これは 1keV 以下の電子線が、イベント間距離が 10nm 以上離れて分布することは稀であり、電子線トラック全体が 1 つのクラスターになることを表す。一方 *Eps*=3nm、*MinPts*=2 では、いずれの電子線エネルギーでもクラスター内イベント数 2 で最大値をとり、電子線トラックは小さいクラスターで多分割された。

次はクラスターのサイズについて述べる。図 2.13 に 0.2keV～102.4keV の電子線から抽出したクラスター（*Eps*=3nm、*MinPts*=2）の root-mean-square radius（RMSR）の頻度分布を示す。ここで RMSR は

$$\mathrm{RMSR} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n(v_{cl})}(r_i - r_{mean})^2}{n(v_{cl})}} \qquad (2.21)$$

と定義した。r_i及びr_{mean}は、それぞれクラスター内の i 番目のイベントの座標とクラスターの重心の座標を、$n(v_{cl})$はクラスター内イベント数がv_{cl}であるクラスターの数量を表す。いずれのエネルギーにおいても RMSR は指数関数的に減少し、5nm を超えるクラスターはわずかであった。これらの結果と、生体中のラジカルの拡散距離が 6nm 程度であること[13]、10bp(3.4nm) 以内の DNA 損傷が DSB となる可能性があること[35]を合わせて考えると、*Eps*=3nm、*MinPts*=2 で抽出されたクラスターと DNA 二本鎖構造（2nm）が重複したときに、重複部に複数の DNA 一本鎖切断が密集して発生する可能性が高いことが予想され、blob や short track 内には DSB が起こりやすい領域が複数存在すると推測される。

(a)



(b)

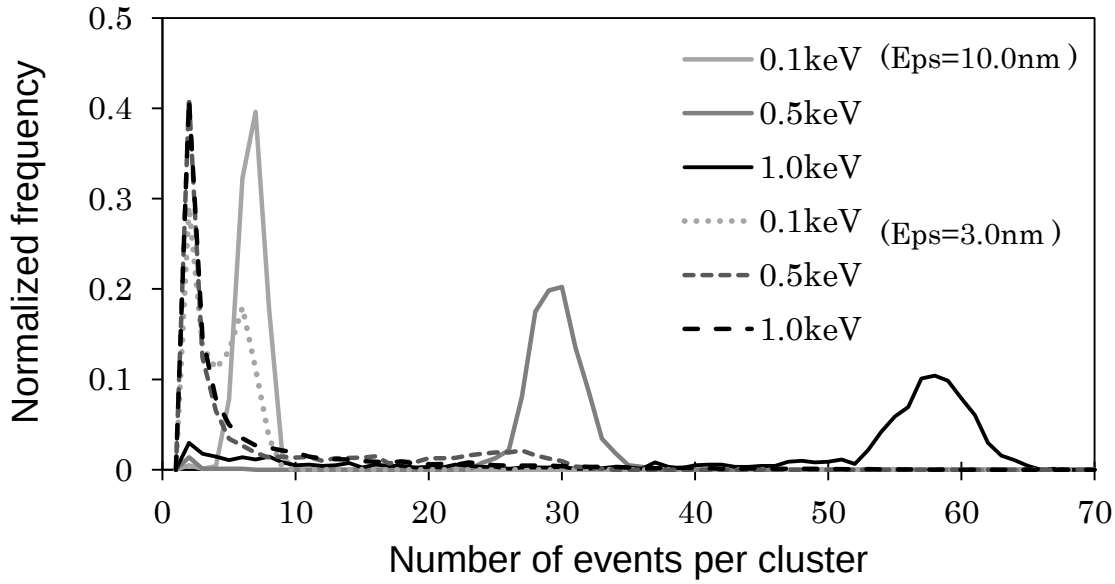


図 2.12　（a）電子線内エネルギー付与数の頻度分布（b）クラスター内エネルギー付与数の頻度分布[33]

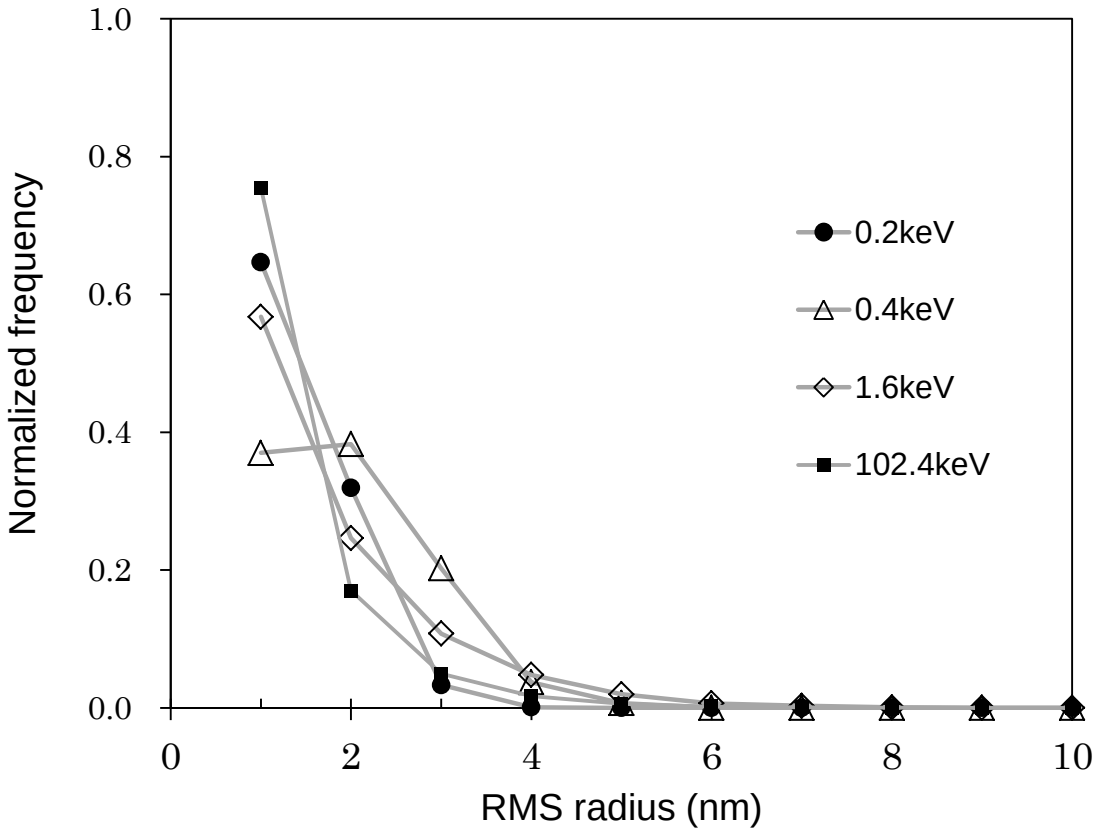


図 2.13　0.2keV～102.4keV の電子線エネルギー付与から抽出したクラスターの root-mean-square radius（RMSR）の頻度分布[33]

2.4.3　クラスター内エネルギー付与数数と Aggregation index の関係

図 2.14 にクラスター内エネルギー付与数ν_{cl}とν_{cl}あたりのクラスターの AI 値の関係を示す。DBSCAN パラメータを *Eps*=3nm、*MinPts*=2 とした。クラスターの平均 AI は近似的に

$$AI_{av}(\nu_{cl})/\nu_{cl} = a \cdot \left[1 - \exp(-\frac{\nu_{cl}-1}{b})\right] \qquad (2.22)$$

と表される[33]。a、b はフィッティングパラメータであり、Markov chain Monte Carlo (MCMC) 法を用いた Bayesian curve fitting により、それぞれ4.45 ± 0.547、9.124 ± 0.542に定められた。電子線から複数のクラスターが抽出されたとき、運動エネルギーEの電子線の AI は、

$$AI(E) = \sum_{\nu_{cl}=1}^{\infty} \sum_{i=1}^{(\nu_{cl})} AI(\nu_{cl})_i \qquad (2.23)$$

と表すことができる。電子線$AI(\nu_{cl})_i$はクラスター内電離・励起イベント数ν_{cl}のクラスターの AI、$n(\nu_{cl})$は電子線トラック内に存在するイベント数ν_{cl}のクラスターの数量である。イベント数ν_{cl}のクラスターの総和は

$$\sum_{i=1}^{n(\nu_{cl})} AI_{(\nu_{cl})i} = AI_{av}(\nu_{cl}) \cdot n(\nu_{cl}) \qquad (2.24)$$

で表される。$AI_{av}(\nu_{cl})$はイベント数ν_{cl}のクラスターの平均 AI である。 したがって(2.23)式に(2.22)式と(2.24)式を代入すると、

$$AI(E) = \sum_{\nu_{cl}=1}^{\infty} a \cdot \nu_{cl} \cdot n(\nu_{cl}) \cdot \left[1 - \exp(-\frac{\nu_{cl}-1}{b})\right] \qquad (2.25)$$

となり、DBSCAN アルゴリズムのから求められる「クラスター内エネルギー付与数の頻度分布」を用いて電子線トラックの AI を計算することができる。

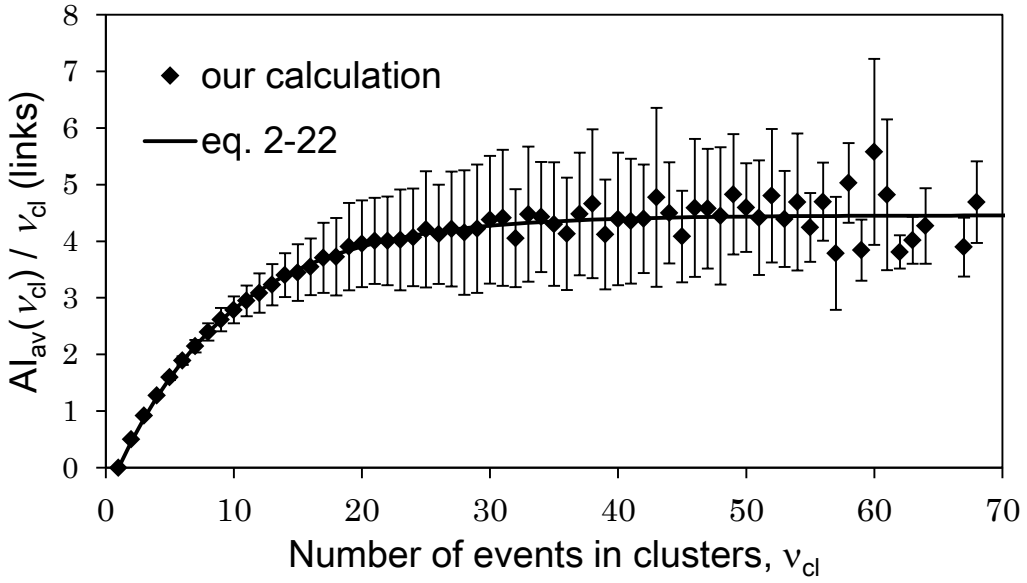
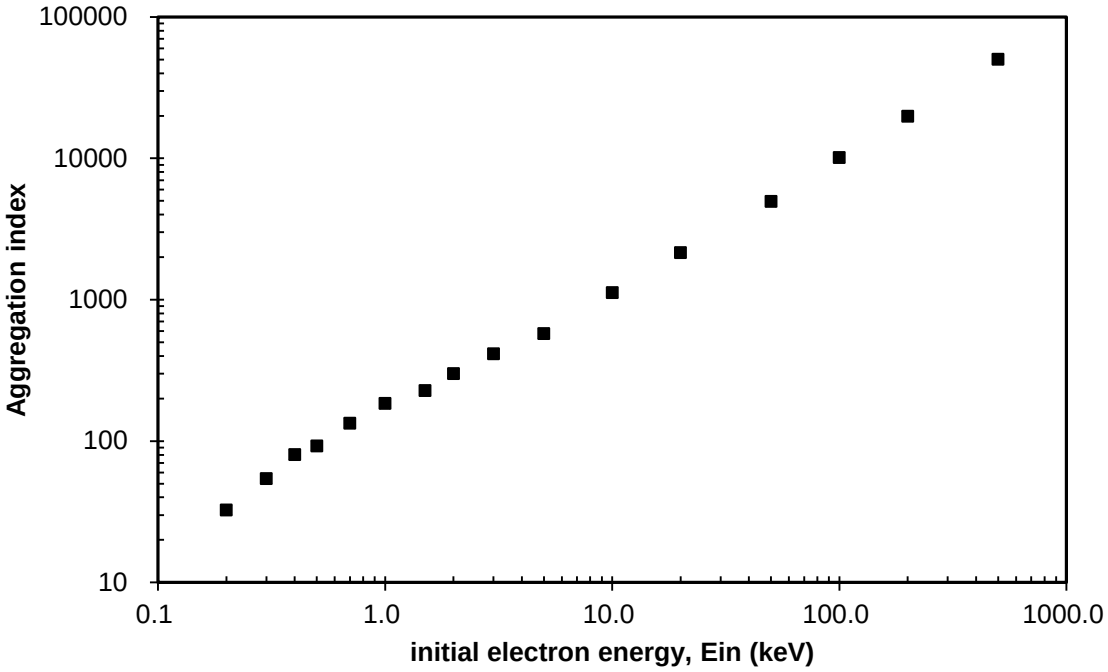


図 2.14　クラスター内エネルギー付与数と、クラスター内エネルギー付与数あたりのクラスターの AI 値の関係[33]。◆は平均値、エラーバーは標準偏差を表す。

2.4.4　Aggregation Index の電子線入射エネルギー依存性

図 2.15a に電子線トラック当たりの AI 値と電子線入射エネルギーの関係を示す。AI 値は電子線エネルギーと比例的に増加したが、30keV 以下では異なる傾向がみられた。30keV 以下の単位電子線エネルギー当たりの AI 値は 30keV 以上と比べ高い値を示し、0.4keV 付近に極大値がみられる（図 2.15b)。電子線トラックの AI は、それを構成するクラスターの AI の総和で与えられる。図 2.16a に「クラスター内エネルギー付与数の頻度分布」の電子線エネルギー依存性を示す。電子線エネルギー当たりのクラスター数は入射エネルギーに依存して変動し、0.4keV 付近に極小値がみられる。その一方で、クラスター内エネルギー付与数が 11 以上の大きなクラスターに注目すると、傾向が反転して 0.4keV 付近に極大値がみられる（図 2.16b)。これは、前節で示したようにクラスター内エネルギー付与数は増加するほどクラスター内 AI 値が増加する傾向があり、AI/E_{in} が 0.4keV 付近に極大値を持つ原因は低エネルギー電子線が高エネルギー電子線と比べて大きいクラスターの割合が多いためである。これらの結果より AI は電子線エネルギーの変動によるエネルギー付与の分布の違いを定量できることが明らかになった。次章では、AI の電子線エネルギー依存性と DSB の関係について検証する。

(a)



(b)

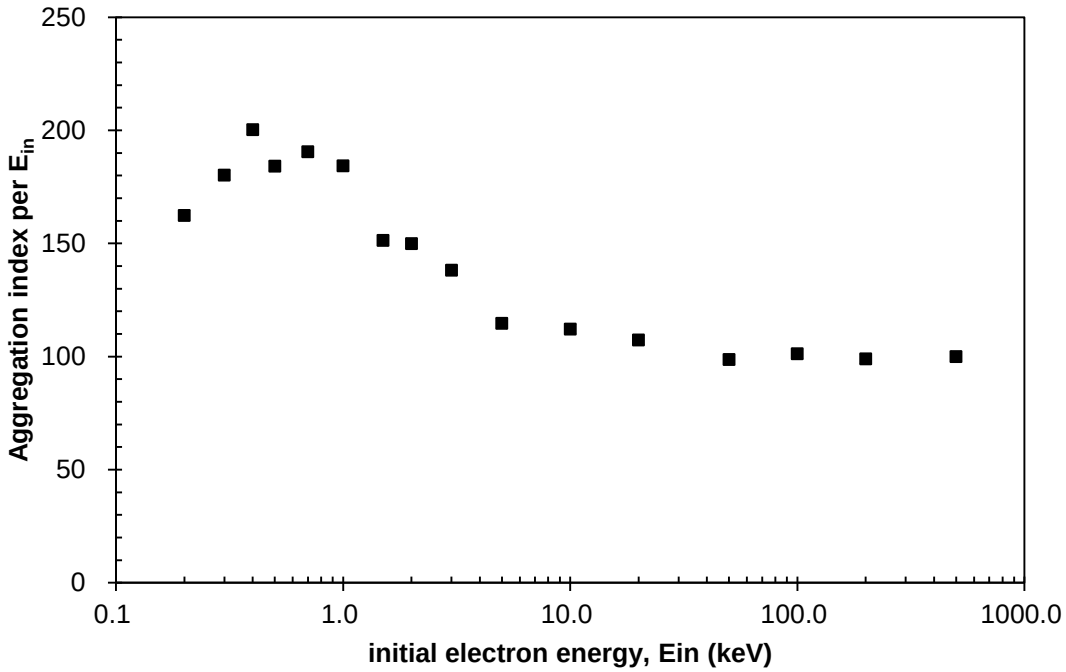
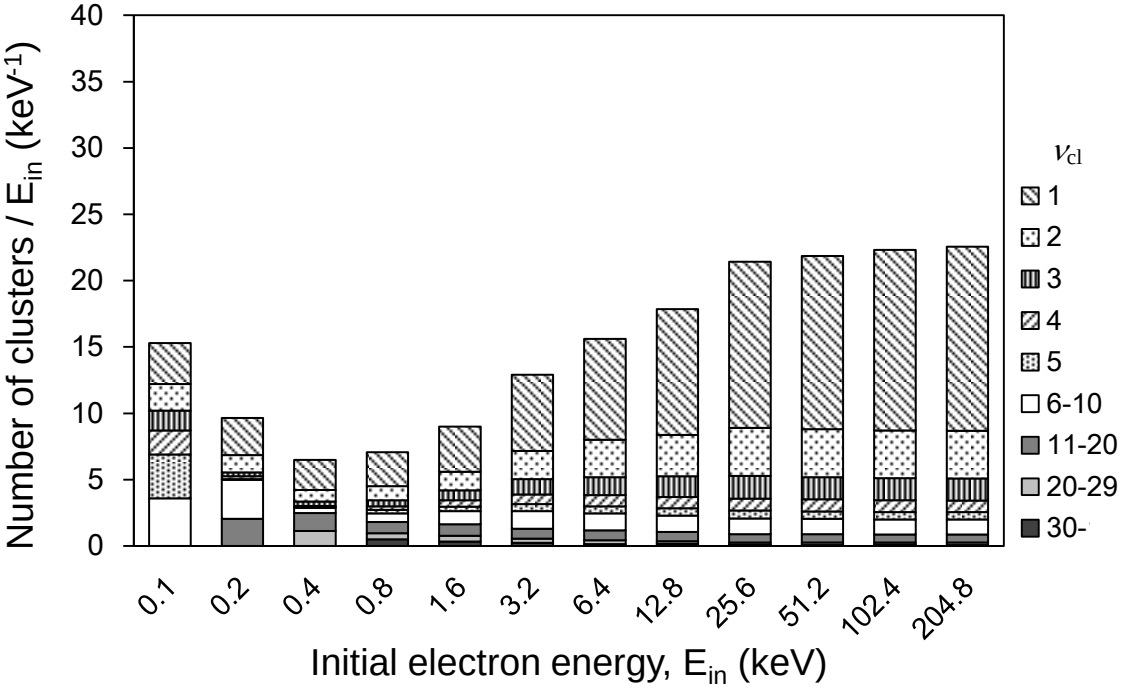


図 2.15　（a）電子線入射エネルギーと Aggregation index（AI）の関係[36]（b）電子線入射エネルギーと電子線入射エネルギーあたりの Aggregation index（AI）の関係。

(a)



(b)

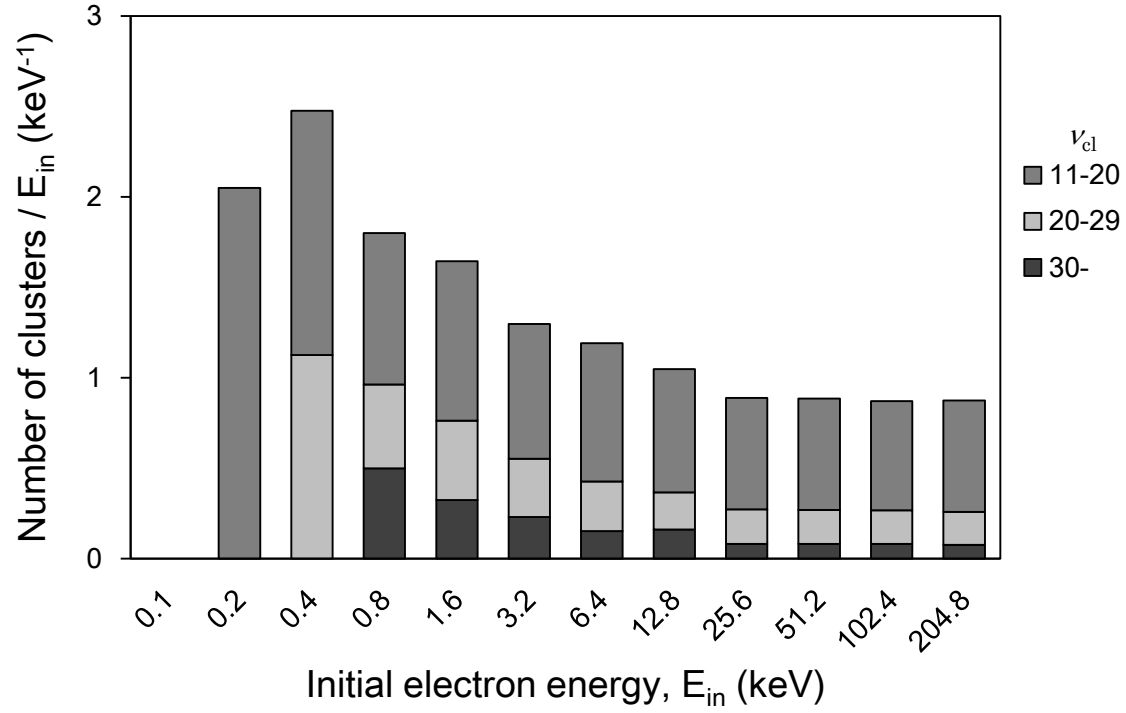


図 2.16　(a) 単位エネルギー当たりのクラスター数の入射エネルギー依存性。(b) (a)の拡大図（ν_{cl}≧11)。DBSCAN パラメータは MinPts=2、Eps=3nm である。

2.4.5　ラジカルの凝集度の経時的変化

図 2.17 に 10keV 電子線から生じた OH ラジカルの AI の経時的変化を示す。ラジカルの空間分布は、2.2.2 節で述べた条件を用いてラジカル輸送の MC 法により算出した。

AI パラメータは、下限値を 0nm から 8nm まで 2nm 間隔とし、上限値は（下限値+2nm）とした。ここで AI パラメータは[上限値-下限値]と表記する。[0-2nm]の AI はラジカル発生後 1000psec までに、隣接する OH ラジカルがほとんどなくなった。[0-2nm]以外のパラメータでは 100psec から 1000psec の間に極大値がみられた。水中における OH ラジカルの拡散係数 D は$2.8 \times 10^{-8} nm^2 \cdot s^{-1}$であるため、拡散距離は 100psec で 1.3nm、1000psec で 4.1nm、100000psec で 40.99nm となる。これらのことより、図 2.17 の 0-2nm の分布の成分はラジカルの拡散により減少する一方、100psec を超えたところでラジカルは平均 1.3nm 以上拡散するので 2-10nm の成分が増加し、これが、ラジカルの二点間距離分布に極大値がみられる原因と推察される。1000psec 以降は急激に減少して 100000psec までにラジカル同士の二点間距離が 10nm 以下になる可能性は極めて低い。このことより 10bp(3.4nm)以内の DNA 一本鎖切断（SSB）に起因して生じる DNA 二本鎖切断（DSB）は、ラジカルが発生してから 1000psec 以内に誘導され、それ以降に誘導される可能性は急激に減少すると考えられる。また 1000psec の拡散距離は 4.1nm であり、DSB は電子線の飛跡の近傍で発生すると考えられる。

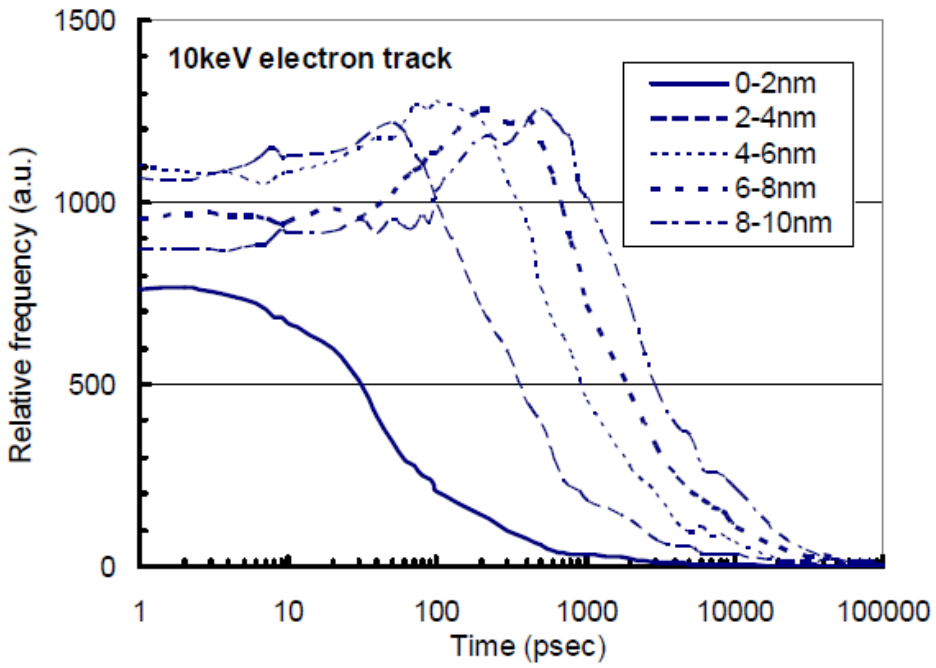


図 2.17　10keV 電子線から生じた OH ラジカルの二点間距離の経時的変化[36]。

2.5 まとめ

本章では、電子線によるエネルギー付与イベント（電離・励起）の二点間距離に注目し、DBSCAN アルゴリズムと Aggregation index（AI）を導入して、モンテカルロ法による電子輸送シミュレーションで計算した水中電子線のエネルギー付与の空間分布を解析した。その結果、以下の結果を得ることができた。

1. DBSCAN アルゴリズムの導入によって、電子線のエネルギー付与のクラスタリング処理によりエネルギー付与が凝集した領域（クラスター）を抽出することが可能となった。
2. AI の導入により、エネルギー付与の凝集度を定量できるようになった。その結果、電子線のエネルギー付与の凝集には、入射エネルギー依存性があり、AI 値は 0.5keV 付近に極大値を持つことが分かった。
3. AI を用いた化学的過程の時空間的変化を解析により、100000psec までに 10nm 以内に隣接するラジカルがほとんど存在しないことが明らかになり、DSB は電子線の近傍で発生することが推測される。

参考文献

[1] Lea, DE. (1955). Actions of radiations on living cells. The American Journal of the Medical Sciences, 229(6), 709.

[2] International Commission on Radiation Units and Measurements. (1983). Microdosimetry. ICRU Report 36. Bethesda, Maryland.

[3] International Commission on Radiological Protection. (2003). Relative biological effectiveness (RBE), quality factor (Q), and radiation weighting factor (w_R). ICRP Publication 92. Annals of the ICRP, 33(4), 1-121.

[4] Nikjoo, H., & Lindborg, L. (2010). RBE of low energy electrons and photons. Physics in medicine and biology, 55(10), R65.

[5] Lindborg, L., Hultqvist, M., Tedgren, ÅC., & Nikjoo, H. (2013). Lineal energy and radiation quality in radiation therapy: model calculations and comparison with experiment. Physics in medicine and biology, 58(10), 3089.

[6] Lindborg, L., & Nikjoo, H. (2011). Microdosimetry and radiation quality determinations in radiation protection and radiation therapy. Radiation protection dosimetry, 143(2-4), 402-408.

[7] Nikjoo, H., Uehara, S., Emfietzoglou, D., & Pinsky, L. (2010). A database of frequency distributions of energy depositions in small-size targets by electrons and ions. Radiation protection dosimetry, ncq396.

[8] Mozumder, A., & Magee, JL. (1966). Model of tracks of ionizing radiations for radical reaction mechanisms. Radiation research, 28(2), 203-214.

[9] Mozumder, A., & Magee, JL. (1966). Theory of radiation chemistry. VII. Structure and reactions in low LET tracks. The Journal of Chemical Physics, 45(9), 3332-3341.

[10] Ward, JF. (1988). DNA damage produced by ionizing radiation in mammalian cells: identities, mechanisms of formation, and reparability. Progress in nucleic acid research and molecular biology, 35, 95-125.

[11] Chatterjee, A., & Holley, WR. (1991). Early chemical events and initial DNA damage. In Physical and Chemical Mechanisms in Molecular Radiation Biology (pp. 257-285). Springer US.

[12] Beaudre, A. (1988). Simulation spatio-temporelle sur ordinateur des processus radiolytiques induits dans l'eau par des electrons. Thèse de doctorat d'université, spécialité Physique Radiologique, Toulouse, France. no 371.

[13] Roots, R., & Okada, S. (1975). Estimation of life times and diffusion distances of radicals involved in X-ray-induced DNA strand breaks or killing of mammalian cells. Radiation research, 64(2), 306-320.

[14] Turner, JE., Magee, JL., Wright, HA., Chatterjee, A., Hamm, RN., & Ritchie, RH. (1983). Physical and chemical development of electron tracks in liquid water. Radiation research, 96(3), 437-449.
[15] Uehara, S., Nikjoo, H., & Goodhead, DT. (1993). Cross-sections for water vapour for the Monte Carlo electron track structure code from 10 eV to the MeV region. Physics in Medicine and Biology, 38(12), 1841.
[16] Tomita, H., Kai, M., Kusama, T., & Ito, A. (1997). Monte Carlo simulation of physicochemical processes of liquid water radiolysis. Radiation and environmental biophysics, 36(2), 105-116.
[17] Friedland, W., Jacob, P., Paretzke, HG., & Stork, T. (1998). Monte Carlo simulation of the production of short DNA fragments by low-linear energy transfer radiation using higher-order DNA models. Radiation research, 150(2), 170-182.
[18] Uehara, S., & Nikjoo, H. (2006). Monte Carlo simulation of water radiolysis for low-energy charged particles. Journal of radiation research, 47(1), 69-81.
[19] Semenenko, VA., Turner, JE., and Boak, TB. (2003). “NOREC,” a Monte Carlo code for simulating electron tracks in liquid water. Radiat Environ Biophys., 42, 213-217.
[20] Berger, MJ., Seltzer, SM., (1973). ETRAN, Monte Carlo code system for electron and photon transport through extended media. ORNL Documentation for RISC Computer code package CCC-107.
[21] Uehara, S. (1986). The development of a Monte Carlo code simulating electron-photon showers and its evaluation by various transport benchmarks. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 14(4), 559-570.
[22] Nelson, WR., Hirayama, H., Rogers, DWO., (1985). The EGS4 code system (SLAC report 265).
[23] Salvat, F., Fernandez-Varea, JM., Sempau, J., (2003). PENELOPE: a code system for Monte Carlo simulation of electron and photon transport. In: Proceedings of a Workshop/Training Course, OECD/NEA 7–10 July
[24] Date, H., Sutherland, KL., Hasegawa, H., & Shimozuma, M. (2007). Ionization and excitation collision processes of electrons in liquid water. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 265(2), 515-520.
[25] Emfietzoglou, D. (2003). Inelastic cross-sections for electron transport in liquid water: a comparison of dielectric models. Radiation Physics and Chemistry, 66(6), 373-385.

[26] Seng, G., & Linder, F. (1976). Vibrational excitation of polar molecules by electron impact. II. Direct and resonant excitation in H2O. Journal of Physics B: Atomic and Molecular Physics, 9(14), 2539.
[27] El-Zein, AAA., Brunger, MJ., & Newell, WR. (2000). Excitation of vibrational quanta in water by electron impact. Journal of Physics B: Atomic, Molecular and Optical Physics, 33(22), 5033.
[28] Danjo, A., & Nishimura, H. (1985). Elastic scattering of electrons from H2O molecule. Journal of the Physical Society of Japan, 54(4), 1224-1227.
[29] Melton, CE. (1972). Cross sections and interpretation of dissociative attachment reactions producing OH−, O−, and H− in H2O. The Journal of Chemical Physics, 57(10), 4218-4225.
[30] Iwanami, S., & Oda, N. (1999). Can heavy charged particles really be regarded as high-LET radiations with respect to their radiobiological actions? I: LETs and fluences of heavy charged particles and associated-rays. Physics in medicine and biology, 44(4), 873.
[31] Yoshii, Y., Sutherland, KL., & Date, H. (2011). Electron track analysis for damage formation in bio-cells. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 269(17), 1887-1891.
[32] Ester, M., Kriegel, HP., Sander, J., and Xu, X. (1997, August). Density-Connected Sets and their Application for Trend Detection in Spatial Databases. In KDD (Vol. 97, pp. 10-15).
[33] Yoshii, Y., Sasaki, K., Matsuya, Y., & Date, H. (2015). Cluster analysis for the probability of DSB site induced by electron tracks. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 350, 55-59.
[34] International Commission on Radiation Units and Measurements. (1983). Stopping Powers for Electrons and Positions. ICRU Report 37. Bethesda, Maryland.
[35] Hanai, M., Yazu, K., Hieda, R. (1998) On the experimental distinction between ssbs and dsbs in circular DNA. International journal of radiation biology, 73(5), 475-479.
[36] Date, H., Yoshii, Y., & Sutherland, KL. (2009). Nanometer site analysis of electron tracks and dose localization in bio-cells exposed to X-ray irradiation. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 267(7), 1135-1138.

第３章

電子線による DSB の発生

3.1　はじめに

放射線トラックのモンテカルロ法（MC 法）は、生体物質と相互作用した荷電粒子を説明する物理モデルと放射線生物学的実験から得られた結果をうまく結びつけることをねらいとして始められた。放射線による生物学的影響を推定する MC 法は、物理過程だけではなく、物理化学的過程や化学的過程、生物学的過程をモデル化して計算を行い、生体内で荷電粒子及びその生成物が及ぼす影響の詳細な時空間情報を与えてくれる。その一方でプロセスを追跡するステップ数が多いため、計算に膨大な時間がかかることが問題であった。そこで化学的過程の計算を行わずに DNA 損傷を推定するモデルとして、ナノサイズの有感体積内に形成された電離数から DNA 損傷を推定する方法[1]や、LET や粒子のエネルギーに応じて DNA 配列にランダムに生成して DNA 損傷を推定する方法[2]が提案されてきた。しかし電子線エネルギー付与間距離と DSB 発生確率を直接結びつけるモデルは、筆者の知る限り報告されていない。

本章では、第 2 章で説明した電子輸送シミュレーションと評価指標に基づいたシンプルな DSB 推定モデルを提案し、電子線照射による DNA 二本鎖切断（DSB）の特性を調べた結果について記す。さらに新しいモデルの妥当性あるいは限界についても議論を試みる。

3.2　電子線による DSB の定量化モデル

3.2.1　エネルギー付与間距離に基づく DSB 効率を推定するモデルの構築

本節では電子線が通過した細胞核内で発生する DSB 数を推定する新しいモデル（以下 AI モデル）について述べる。まず第２章で述べた電子線の AI 値が DSB 効率Yと比例すると仮定して、入射エネルギーE_{in}の電子線による DSB 効率を

$$Y(E_{in})\left[\frac{DSBs}{keV}\right] = k \cdot \frac{AI(E_{in})}{E_{in}}\left[\frac{links}{keV}\right] \tag{3.1}$$

と置く。ここでkは比例係数を表し、第２章で述べた AI の結果と Friedland らが MC 法を用いて計算した結果[3]から最小二乗法を用いて算出する。さらに DSB は１つのクラスター内エネルギー付与で発生するものし、他のクラスター内エネルギー付与の影響を受けない独立な試行と仮定して、電子線による DSB 発生率は電子線内の各クラスター内エネルギー付与による DSB の総和：

$$Y(E_{in})\left[\frac{DSBs}{keV}\right] = \sum_{i=1}^{\infty} Y(\nu_{cl})_i \tag{3.3}$$

とした。$Y(\nu_{cl})_i$はエネルギー付与数ν_{cl}の i 番目のクラスターにおける DSB 効率を表し、

$$Y(\nu_{cl})_i = k \cdot \frac{AI_{(\nu_{cl})i}}{E_{in}} \tag{3.2}$$

である。ここで$AI_{(\nu_{cl})i}$はエネルギー付与数ν_{cl}の i 番目のクラスターにおける AI を表す。このときエネルギー付与数ν_{cl}のクラスターによる平均 DSB 効率は

$$Y_{av}(\nu_{cl}) = k \cdot \frac{AI_{av}(\nu_{cl})}{E_{in}} \tag{3.4}$$

となる。また(3.3)式と前章の (2.23)式、(2.24)式を(3.1)式に代入すると

$$Y(E_{in}) = \sum_{\nu_{cl}=1}^{\infty} Y_{av}(\nu_{cl}) \cdot\ n(\nu_{cl}) \tag{3.5}$$

となる。ここで、$Y_{av}(\nu_{cl})$は(3.3)式に前章の(2.22)式を代入することより、

$$Y_{av}(\nu_{cl}) = \frac{a \cdot k \cdot \nu_{cl}}{E_{in}} \left[1 - \exp(-\frac{\nu_{cl}-1}{b})\right] \tag{3.6}$$

と与えられる。ここでa及びbは第２章で述べた定数であり、それぞれ4.45、9.124である。

DNA 損傷の細胞実験では、DSB 効率の単位に[DSB/Gy/Da]が用いられる[4]。この単位は近似的に単位エネルギーあたりの DSB で与えられる：

$$\begin{aligned} Y(Q)\left[\frac{10^{-11} \cdot DSBs}{Gy \cdot Da}\right] &= \frac{10^{-11}}{\frac{10^{-3}}{1.6\times10^{-19}} \times \frac{10^{-3}}{6.02\times10^{23}}} \times Y\left[\frac{kg \cdot DSBs}{keV \cdot kg}\right] \\ &= 0.9632 \times Y(Q)\left[\frac{DSBs}{keV}\right] \\ &\cong Y(Q)\left[\frac{DSBs}{keV}\right] \\ &\cong \sum_{\nu_{cl}=1}^{\infty} Y_{av}(\nu_{cl}) \cdot n(\nu_{cl})\left[\frac{DSBs}{keV}\right] \end{aligned} \tag{3.7}$$

3.2.2　Friedland らのシミュレーション実験の概要

Friedland らはシミュレーションコード”PARTRAC”に、より現実に近い DNA モデルを導入して、X 線と電子線照射のシミュレーションを行うことで、DNA 損傷とそれによる DNA 断片について解析した[3]。ここでは DNA 損傷についてのみ述べる。PARTRAC の電子輸送シミュレーションは MOCA-8 コード[5]を基に設計されており、water vapor の断面積[6]が使われている。幾何学的条件は直径 400μm の一滴の血液内に直径 5μm の細胞核を含む直径 10μm の細胞を仮定し、３つの球体を同心円状に配置する。DNA ターゲット領域の密度は 1.35g/cm^3、血液や細胞質は 1.06g/cm^3 である。ヒト細胞を仮定し、DNA の総分子量は3.6×10^{12}Da とする。塩基対の割合（AT/GC）は１とし、DNA ターゲットモデルはデオキシヌクレオチド構造、DNA 二本鎖構造、ヌクレオソーム構造、クロマチンファイバー構造、クロマチンループ構造の５段階構造で構成される（図 3.1）。クロマチンファイバ

一構造は solenoid model、crossed-linker model、stochastic model、zigzag model の４種である。DNA 構成元素の von der Waals 半径の２倍の範囲に電子線のエネルギー付与があるとき、DNA 損傷の判定を行う。シミュレーションは細胞内吸収線量が 1Gy に達したら次の細胞でシミュレーションを始める。試行細胞数は 10～1000 である。

図 3.2 に Friedland らのシミュレーション結果を示す。低エネルギー部はエネルギーが増加するほど DSB 効率が増加し、400eV 付近で最大となった。400eV 以上では電子線エネルギーが増加するほど、DSB 効率は減少し、30keV 付近で一定となるまでに最大値から 40%減少した。クロマチン構造の違いによる DSB 効率の変動は小さかった。

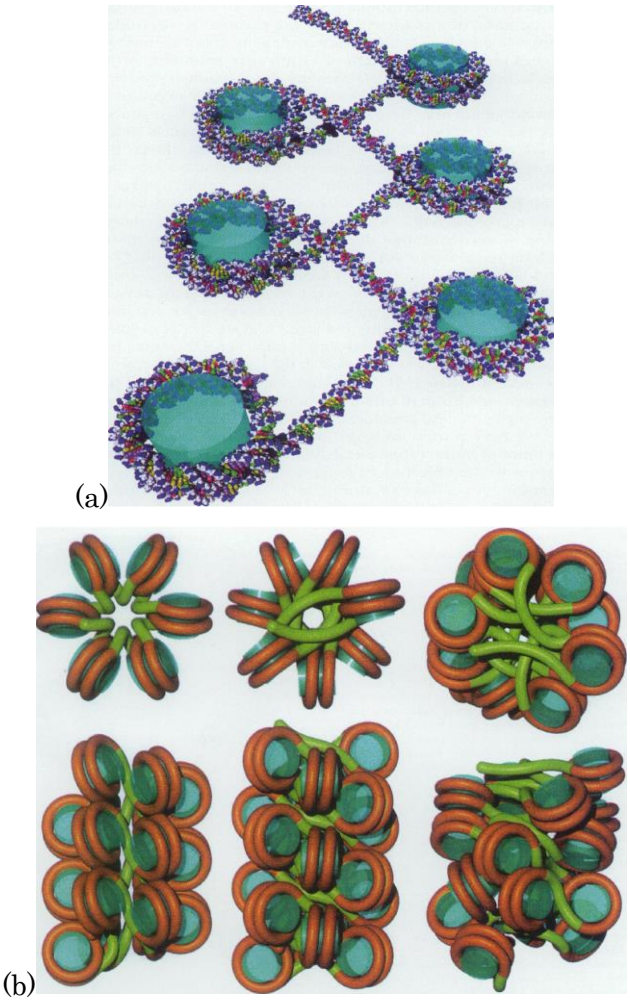


図 3.1　Friedland らが用いた DNA モデル。(a)zigzagmodel のクロマチンファイバーの DNA。青がリン酸基の分子、白が糖鎖の分子、緑、黄、赤、紫がそれぞれアデニン、グアニン、シトシン、チミンの分子、青緑の円柱はヒストンを表す。(b)左から solenoid model、crossed-linker model、stochastic model のクロマチンファイバーの DNA（参考文献[3]の図１と図２を引用）。

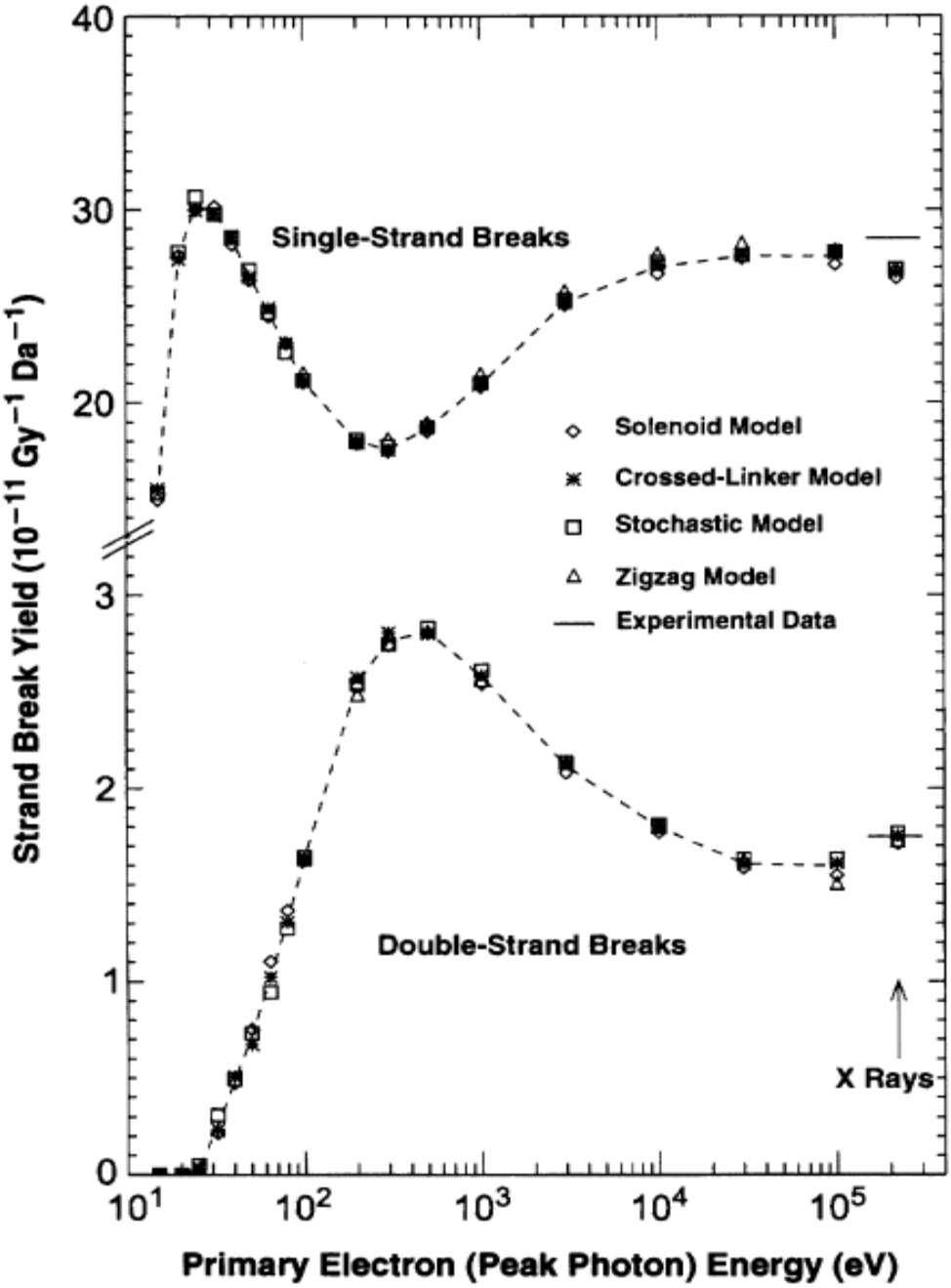


図 3.2　DNA 一本鎖切断（SSB）と DNA 二本鎖切断（DSB）の初期電子エネルギー依存性。実験値は 220kVp X 線による DNA 損傷である（参考文献[3]の図 5 を引用）。

3.3　シミュレーション結果と考察

3.3.1　Aggregation Index（AI）と DSB

図 3.3 に前章で計算した単位エネルギー当たりのエネルギー付与の AI と DSB 効率の比較を示す。比較した DSB 効率のデータは Friedland らが行ったシミュレーション値[3]である。AI 値には比較データと最小二乗法によりフィッティングして求めた係数 k（=0.0149）を乗じた。電子線エネルギーによる AI 値の変動の傾向は Friedland らが計算した DSB yield とよく一致し、0.5keV 付近に極大値を持ち、40keV 以上では値がほぼ一定となっていることが分かる。またエネルギー付与が隣接する箇所(linkage)の数は比例係数(0.0149)の逆数で与えられるため、1 つの DSB を生成するためには、3nm 以内にエネルギー付与同士が隣接する箇所（linkage）が約 67 箇所必要であることが示唆された。AI 値が DSB 効率と比例関係にあることが確認できたため、エネルギー付与の AI は DSB 効率を推定する指標になると考えられる。また物理化学過程や化学的過程の計算を行うことなく、エネルギー依存性を考慮した DSB 数を推定できるため、計算時間が大幅に短縮できる。ただし今回比較した Friedland らのデータは、ヌクレオソーム構造やクロマチンファイバー構造をモデリングした DNA モデルを用いてシミュレーションした結果であることに注意すべきである。ヌクレオソーム構造やクロマチンファイバー構造にはラジカルによる DNA 損傷（間接効果）を抑制作用があることが報告されているので[7-11]、ヒストンと複合体を形成しない DNA（例えばミトコンドリア DNA、mtDNA）に対して、AI による DSB 効率の推定を適用するべきではないであろう。また AI 値は電子線の飛跡の重複を考慮していないため、1000Gy 以下[12]で適用すべきである。

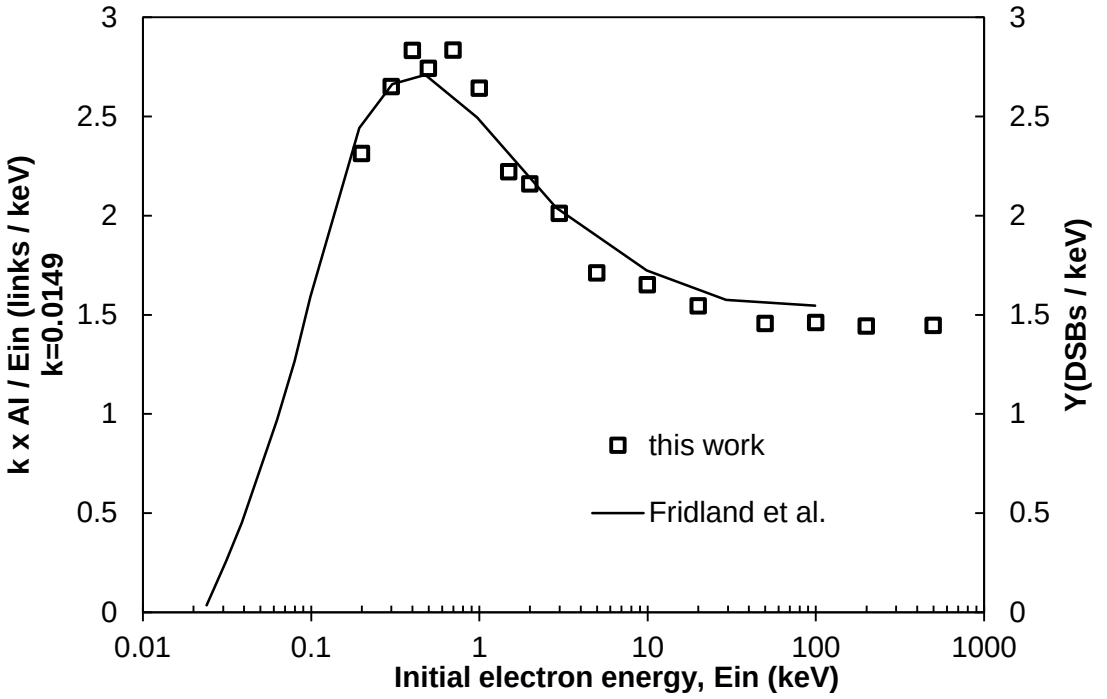


図 3.3　AI と DSB 効率の電子線入射エネルギー依存性の比較。

3.3.2　クラスター内の DSB

図 3.4 にクラスター内エネルギー付与イベント数と DSB 数の関係を示す。クラスター内で発生する DSB 数は、エネルギー付与数に比例して増加した。この結果は、クラスター内エネルギー付与数ν_{cl}が 19 以上にはクラスター内に１つ以上、32 以上では２つ以上の DSB が生成される可能性を示唆している。クラスターの root-mean-square radius（RMSR）は、第２章で述べたように 5nm を超えることが少ないため、クラスターに生成する DNA 損傷はクロマチンファイバー（30nm）上の狭い範囲に分布すると予想される。そのため$\nu_{cl} \geq 19$のクラスター内には、Clustered DNA damage を発生させる潜在能力があるかもしれない。Clustered DNA damage は Ward が Locally multiple damaged sites (LMDS)として提唱した DNA 損傷[13]である。複数の SSB または塩基損傷が隣接して発生する状態で DNA が複雑に切断されるため、DNA の修復が起こりにくく[14]、修復されたとしてもそれが誤修復である確率が高い[15]と考えられている。図 3.5 に AI モデルから DSB 効率に対するエネルギー付与数ν_{cl}のクラスターによる DSB の割合を示す。$\nu_{cl} \geq 19$の大きなクラスターは 0.8keV で最大となるため、運動エネルギーが 0.8keV 付近の電子線は、高エネルギー電子線と比べて、効率よく DSB を形成すると考えられる。高エネルギー電子線でも運動エネルギーが 0.8keV 程度に低下した飛跡の終端部は、$\nu_{cl} \geq 32$のクラスターになりやすい（図 3.6）ので、DSB が生成されやすいといえる。

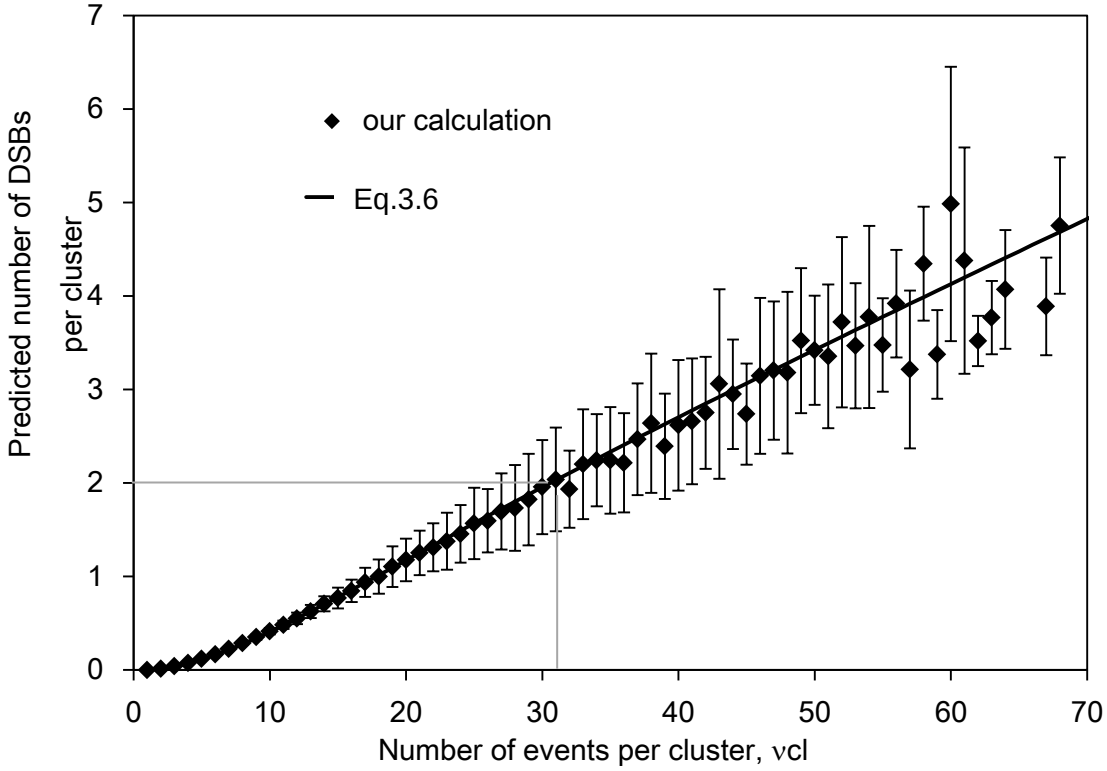


図 3.4　クラスター内エネルギー付与イベント数と AI モデルから推定されるクラスター内 DSB 数の関係。◆はクラスター内 AI に比例係数（0.0149）を乗じた値、実線は平均クラスター内 DSB 数を表す。エラーバーは標準偏差を表す。

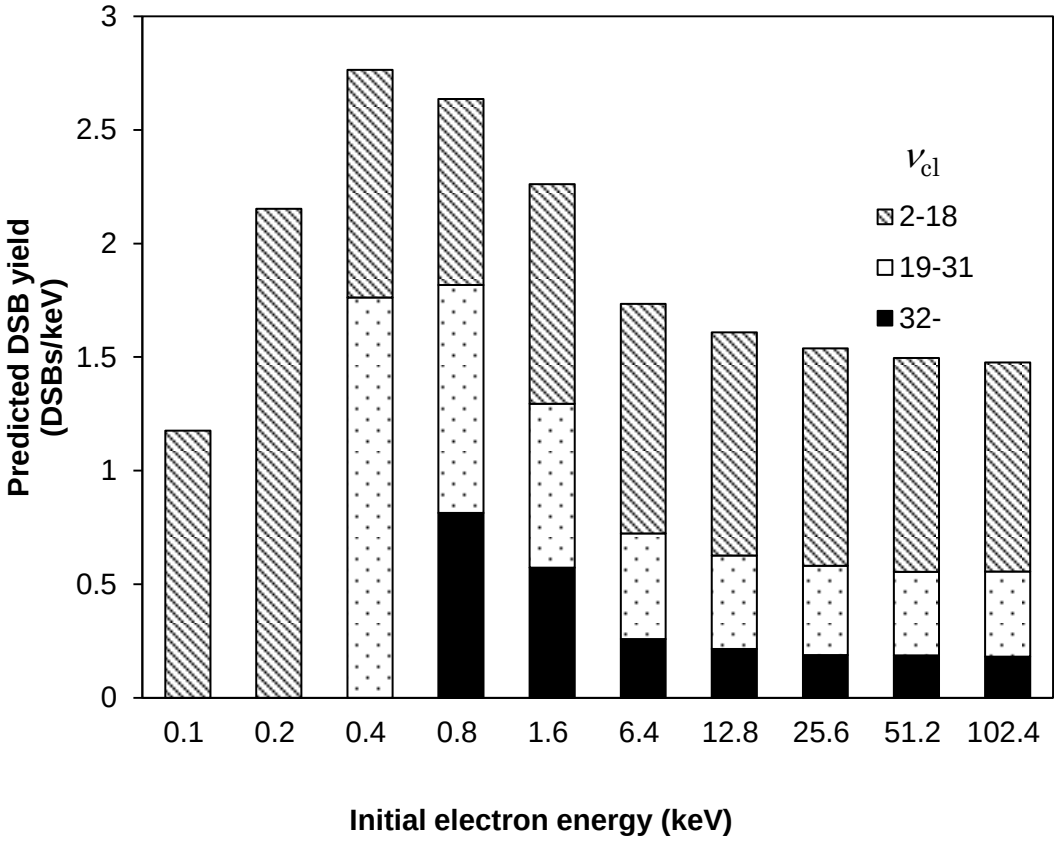


図 3.5　クラスター内 DSB 効率の分布。縦軸が AI モデルから推定される DSB 効率、横軸は電子線入射エネルギーを表す。ν_{cl}はクラスター内エネルギー付与数を表す。

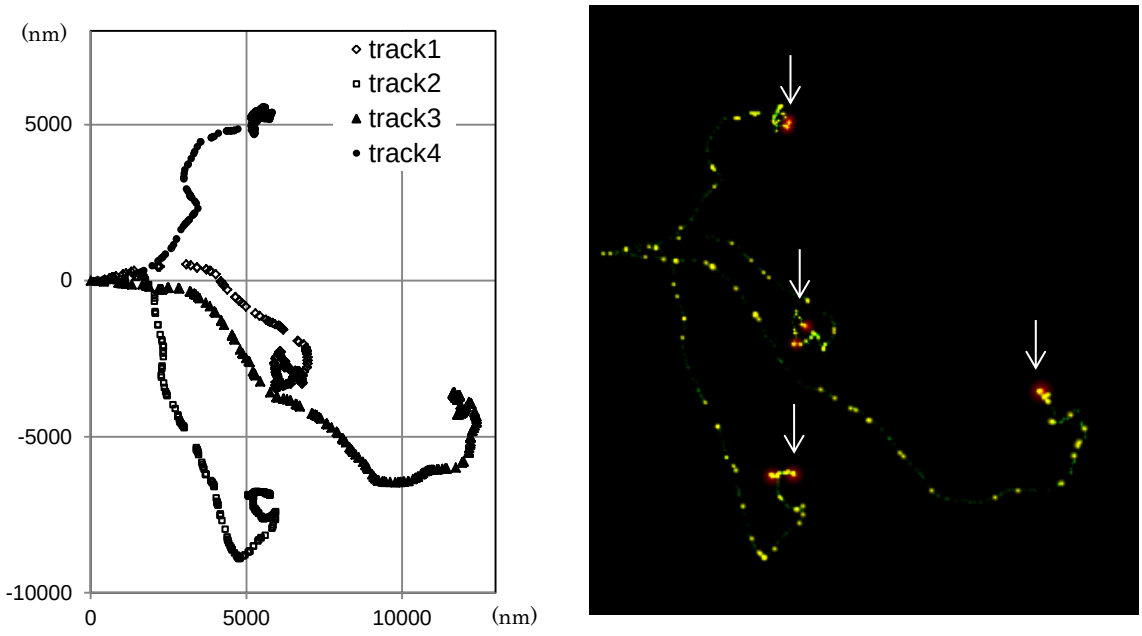


図 3.6　左：原点から入射した 4 本の 30keV の電子線のエネルギー付与の空間分布の例。右:左図データから DBSCAN アルゴリズムで抽出したクラスターの分布。緑点が$\nu_{cl} < 19$、黄点が 32> $\nu_{cl} \geq 19$、赤点が$\nu_{cl} \geq 32$のクラスターを示す。白矢印は飛程の終端を指す。

3.6　まとめ

本章では、第２章で導入した指標 AI と DSB を関連付けるモデルを構築し解析を行った。その結果、以下の知見を得ることができた。

1. AI と DSB 効率の関係を解析した結果、比例関係があることが確認され、DSB 効率の電子線エネルギー依存性を AI モデルにより再現できるようになった。3nm 以内に隣接する電子線の２つのエネルギー付与は DSB の誘導に寄与する可能性が高いことが示唆された。
2. クラスター内 AI を解析した結果、クラスター内エネルギー付与数と DSB 数は概ね比例関係にあることが明らかになった。クラスター内でエネルギー付与数が 19 個のとき、平均 DSB 数が 1 となることが分かった。
   電子エネルギーが約 0.8keV で大きいクラスターのできる確率が最大となることが分かり、運動エネルギーが 0.8keV に低下した電子線飛程の終端部では DSB が起こりやすいことが示された。

参考文献

[1] Garty, G., Schulte, R., Shchemelinin, S., Grosswendt, B., Leloup, C., Assaf, G., et al. (2006). First attempts at prediction of DNA strand-break yields using nanodosimetric data. Radiation protection dosimetry, 122(1-4), 451-454.

[2] Semenenko, VA., & Stewart, RD. (2004). A fast Monte Carlo algorithm to simulate the spectrum of DNA damages formed by ionizing radiation. Radiation research, 161(4), 451-457.

[3] Friedland, W., Jacob, P., Paretzke, HG., & Stork, T. (1998). Monte Carlo simulation of the production of short DNA fragments by low-linear energy transfer radiation using higher-order DNA models. Radiation research, 150(2), 170-182.

[4] Frankenberg, D., Frankenberg-Schwager, M., Blöcher, D., & Harbich, R. (1981). Evidence for DNA double-strand breaks as the critical lesions in yeast cells irradiated with sparsely or densely ionizing radiation under oxic or anoxic conditions. Radiation research, 88(3), 524-532.

[5] Paretzke HG. Radiation track structure theory. In Kinetics of Nonhomogeneous Processes (G. R. Freeman, Ed.), pp. 89-170. Wiley, New York, 1987

[6] Paretzke HG. (1988). Simulation von Elektronenspuren im Energiebereich 0.01-10 keV in Wasserdampf. Report GSF-Bericht 24/88, Neuherberg.

[7] Ljungman, M. (1991). The influence of chromatin structure on the frequency of radiation-induced DNA strand breaks: a study using nuclear and nucleoid monolayers. Radiation research, 126(1), 58-64.

[8] Ljungman, M., Nyberg, S., Nygren, J., Eriksson, M., & Ahnström, G. (1991). DNA-bound proteins contribute much more than soluble intracellular compounds to the intrinsic protection against radiation-induced DNA strand breaks in human cells. Radiation research, 127(2), 171-176.

[9] LOBRICH, PK COOPER and B. RYDBERG, M. (1996). Non-random distribution of DNA double-strand breaks induced by particle irradiation. International journal of radiation biology, 70(5), 493-503.

[10] Bernhardt, P., Friedland, W., Jacob, P., & Paretzke, HG. (2003). Modeling of ultrasoft X-ray induced DNA damage using structured higher order DNA targets. International Journal of Mass Spectrometry, 223, 579-597.

[11] Takata, H., Hanafusa, T., Mori, T., Shimura, M., Iida, Y., Ishikawa, K., et al. (2013). Chromatin compaction protects genomic DNA from radiation damage. PloS one, 8(10), e75622.

[12] Friedland, W., Jacob, P., Paretzke, HG. (1997). Biophysical simulation of DNA fragments from low-LET radiation. Radiation Research 148:486–487

[13] Ward, J. F. (1988). DNA Damage Produced by Ionizing Rodiotion identities, mechanisms of formation and repairability. Progress in nucleic acid research and molecular biology, 35, 95-125.

[14] Asaithamby, A., & Chen, D. J. (2011). Mechanism of cluster DNA damage repair in response to high-atomic number and energy particles radiation. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 711(1), 87-99.

[15] Ritter, S., & Durante, M. (2010). Heavy-ion induced chromosomal aberrations: a review. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 701(1), 38-46.

第４章

X 線による DSB の発生

4.1　はじめに

現在日本の診療用 X 線による医療被ばくは、第１章で述べたように表面入射線量等の吸収線量に基づく指標を評価の基準とし、線量の最適化を行っている。一方で吸収線量だけではなく、微視的エネルギー付与の分布の違いが生物学的応答に対して極めて重要な因子であることが知られている[1-3]。たとえば基準放射線は 200kVX 線又は Co-60γ線とし、エンドポイントを DSB、細胞死（cell death）、二動原体染色体異常（dicentric chromosome aberration）としたとき、乳房撮影用 X 線の RBE はそれぞれ 1.2 から 1.4[4,5]、8.6[6]、1.8±0.88.6[7]であり、同じ吸収線量であっても乳房撮影用 X 線の方が、生物学的影響が大きいことが報告されている。

本研究では、第３章で述べた電子線に適用した AI モデルを光子線へ応用し、DSB 発生率を評価の指標として光子線照射による生物学的影響について検討した。さらに実際の細胞実験の結果と比較し、AI モデルの光子線への適用の妥当性あるいは限界について議論を試みた。

4.2　光子輸送のモンテカルロシミュレーション

4.2.1　光子線と水の相互作用

光子と原子の相互作用は、干渉性散乱 coherent scattering、光電効果 photoelectric effect、コンプトン散乱 Compton scattering、電子対生成 pair production および光核反応 photo nuclear reaction がある（図 4.1）。各相互作用が起こす確率は断面積 cross section で評価される（図 4.2）。

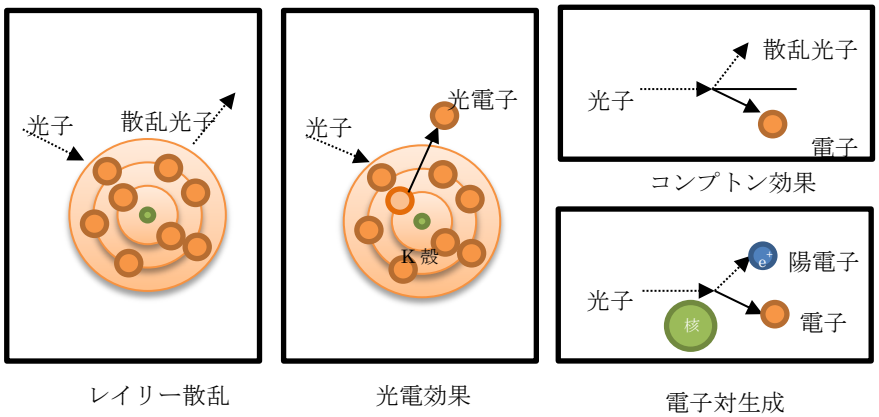


図 4.1　光子と物質の相互作用

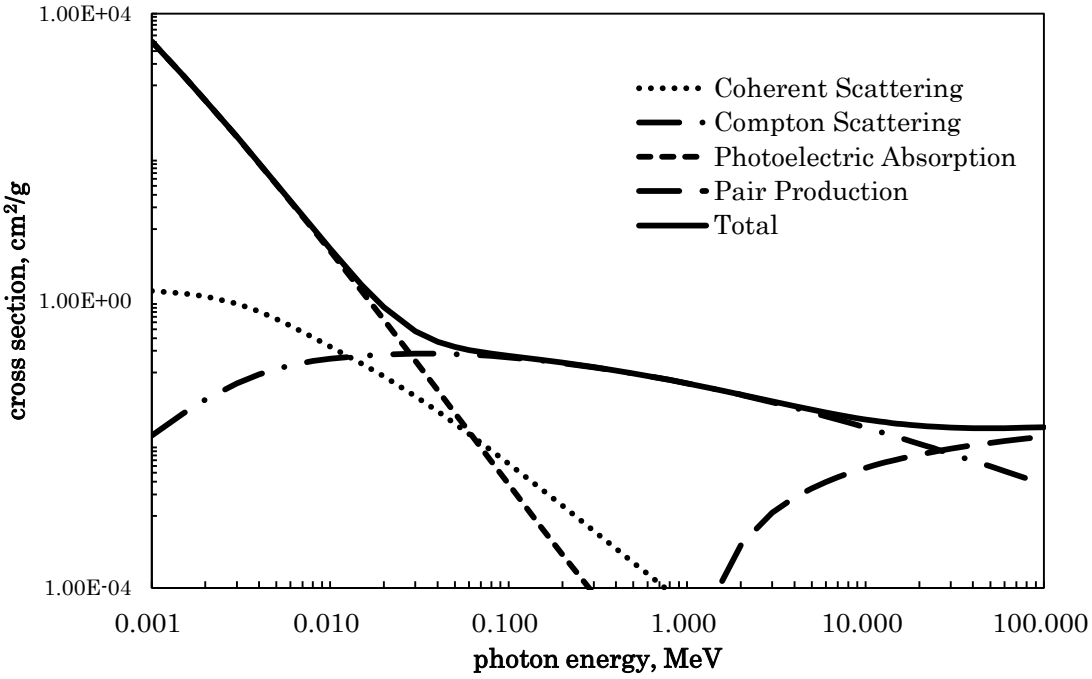


図 4.2　光子と水の相互作用断面積[8]

干渉性散乱は数 keV の光子エネルギーで頻回に起こる。このような低エネルギー光子は波としての性質を強く持つ。入射光子が原子にあたると原子の軌道電子群は入射光子と同じ振動数で強制振動をする。その結果振動を始めた電子はその振動エネルギーと同じ振動数の光子を放出する（双極子輻射 dipole radiation）。つまり光子はエネルギーを失わず、弾性散乱を起こしたとみなすことができる。

光電効果・コンプトン効果は放射線診断領域の X 線で重要となる。光電効果では、物質に入射した光子は物質の軌道電子にすべてのエネルギーを与え、入射光子は消滅する。そのため光電効果は光電吸収 photoelectric absorption と呼ばれる。エネルギーを受け取った軌道電子はその原子から放出され、その空位の軌道を埋めるため、外側の軌道電子が落ち込む。そのとき結合エネルギーの差分エネルギーが放出される。これを特性 X 線 characteristic x-ray という。光電吸収が起こる確率は原子番号 Z の増加とともに増加し、光子エネルギーの増加とともに減少する。K 殻軌道電子の断面積は Z^5 に比例し、m_0c^2 より十分に小さいとき（非相対論領域）$(h\nu)^{-3.5}$、m_0c^2 近くでは $(h\nu)^{-2}$、m_0c^2 より十分に大きいとき $(h\nu)^{-1}$ に比例する。

コンプトン効果は入射光子エネルギーが電子軌道の結合エネルギーより十分に高いときに起こり、このときコンプトン効果は光子と自由電子の相互作用であるとみなすことができ、相互作用前後のエネルギー保存則と運動量保存則により散乱角とエネルギーを求めることができる。入射エネルギー E_0 の光子に対して角度 θ に散乱された光子のエネルギーEは

$$E = \frac{E_0}{1-(1-\cos\theta)E_0/mc^2} \tag{4.1}$$

で与えられる。また微分断面積は Klein-Nishina の式

$$\frac{d\sigma}{dE} = \frac{r_0^2}{2}\left(\frac{1}{1+(1-\cos\theta)E_0/mc^2}\right)^2 \times \left[1+\cos\theta^2+\frac{(1-\cos\theta)^2(E_0/mc^2)^2}{1+(1-\cos\theta)E_0/mc^2}\right] \tag{4.2}$$

で与えられる。ここでr_0は古典電子半径である。

電子対生成は、主として原子核のクーロン場の中で光子が消滅して、1 対の電子と陽子が生成される現象である。光子は 2 個の電子を作り出すために電子の静止質量m_0の 2 倍のエネルギー（$2m_0c^2$=1.022MeV）を持っていなければいけない。1.022MeV 以上のエネルギーを持つ光子では、余ったエネルギーは正負の電子に分配される。光核反応については本研究でのエネルギー範囲では起こらないか影響が微小であるため、説明を省略する。

4.2.2　光子輸送計算のアルゴリズムの概要

光子輸送の計算には EGS5（Electron Gamma Shower version 5）[9]を使用した。EGS5 コードは、数 keV から数 TeV までのエネルギー領域の電子・光子輸送をシミュレーションすることができ、医学物理分野で多く利用されている。光子の物理過程ではレイリー散乱、光電吸収、特性 X 線放出とオージェ電子放出、コンプトン散乱、電子対生成を扱い、断面積は表 4.1 に示すものを使用している。

表 4.1　EGS5 コードが取り扱う物理過程とデータ

物理過程	断面積データ
レイリー散乱	PHOTX ライブラリ[10]
光電吸収	PHOTX ライブラリ[10]
特性 X 線、オージェ電子	PHOTX ライブラリ[10] Table of Isotopes 8th Edition[11]
コンプトン散乱	Klein-Nishina formula[12]
電子対生成	Bethe-Heitler formula[13]

4.2.3　シミュレーション条件

光子輸送計算は次の条件で行われた。図 4.3 に光子線照射の幾何学的条件を示す。光子線源から 10cm の位置にターゲット表面を配置し、その中心に平行ビームを照射した。照射野は 2cm×2cm とした。乳腺撮影用 X 線以外のターゲットは人体の体部を想定した 20cm 立方の水ファントムとし、周囲に 5cm の空気層を配置した。乳腺撮影用 X 線では、乳房を想定したファントムの厚さを 5cm とした。線源とターゲット表面の距離を 10cm とし、データ収集を目的とした 1cm 四方の立方体をファントム内に配置し、光子線のエネルギー付与の情報を保存した。光子線源の種類は、乳腺撮影用 28kVp X 線（Mo/Mo）、200 kVp X 線、リニアック用 6MV X 線、Co-60 γ線の４種とし、光子線スペクトルは図 4.4 に示すデータを用いた。カットオフエネルギーは 1keV とした。入射光子数は 3×10^{7}～9×10^{9} とし、出力値の誤差が十分に小さくなるようにした。発生した二次電子の輸送計算は WLTRACK コードを使用し、第２章で述べたと同じ条件で行った。

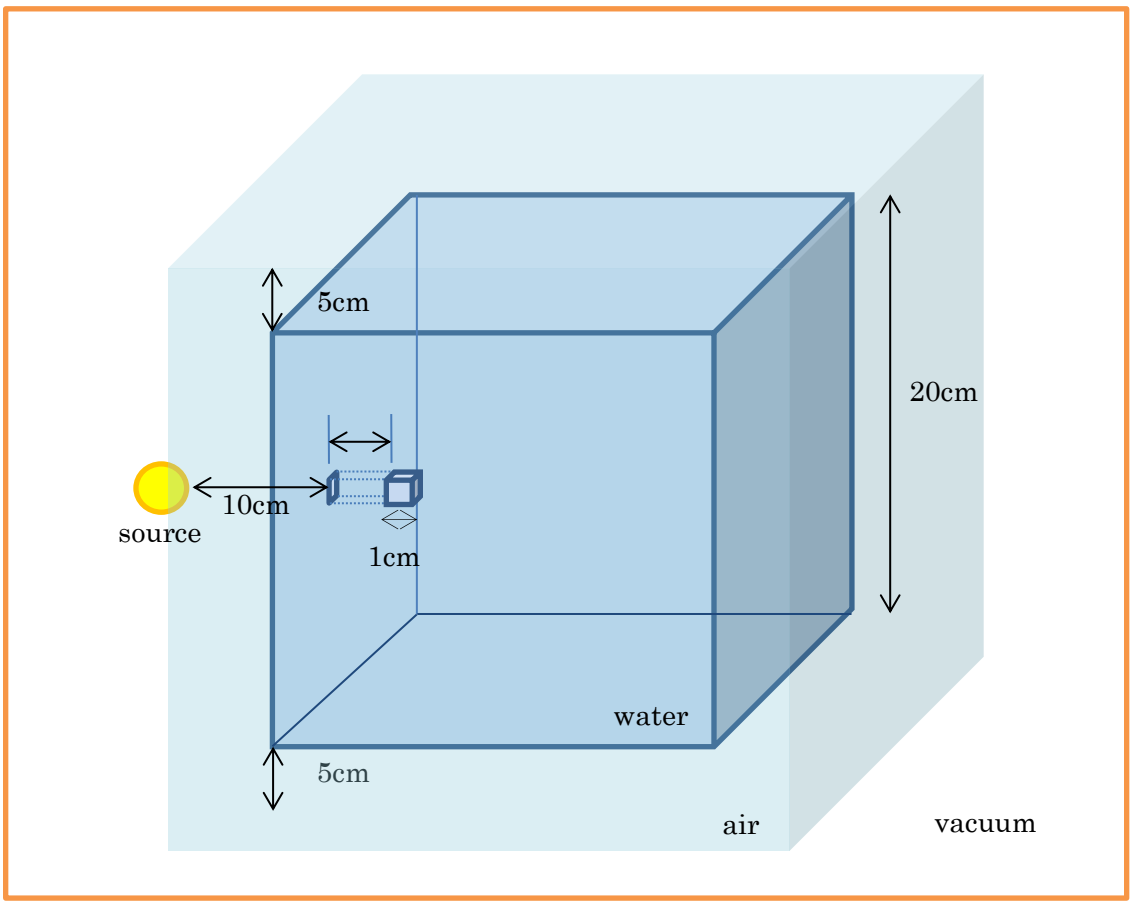


図 4.3　光子線照射の幾何学的条件

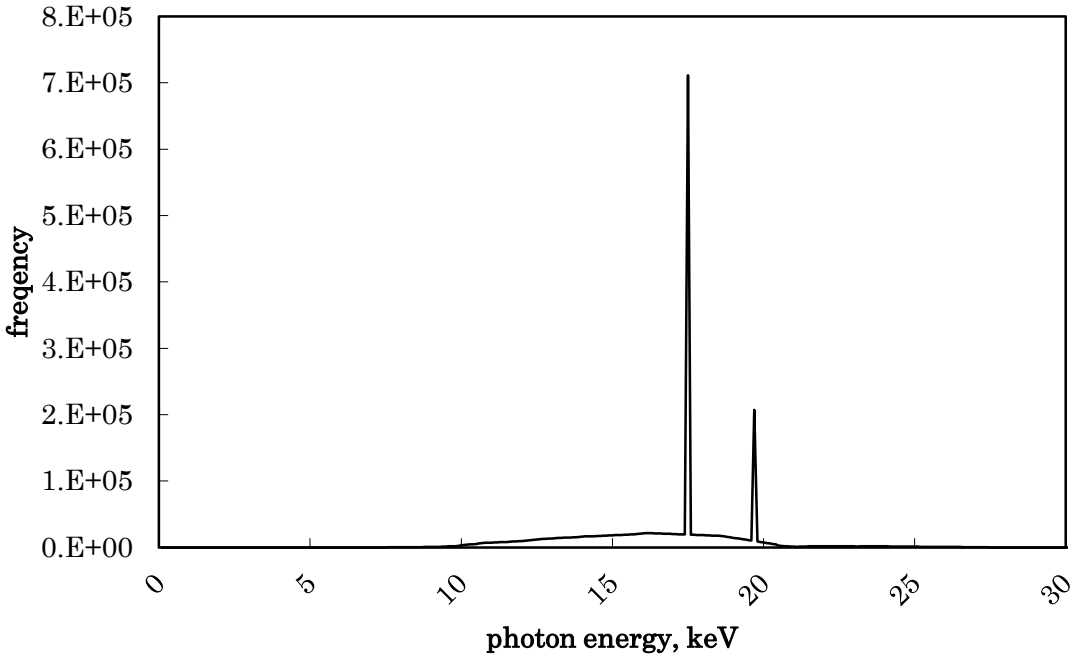


図 4.4　乳腺撮影用 28kVp X 線（Mo/Mo）のエネルギースペクトル
F. Verhaegen and B. Reniers のデータ[14]を使用した。

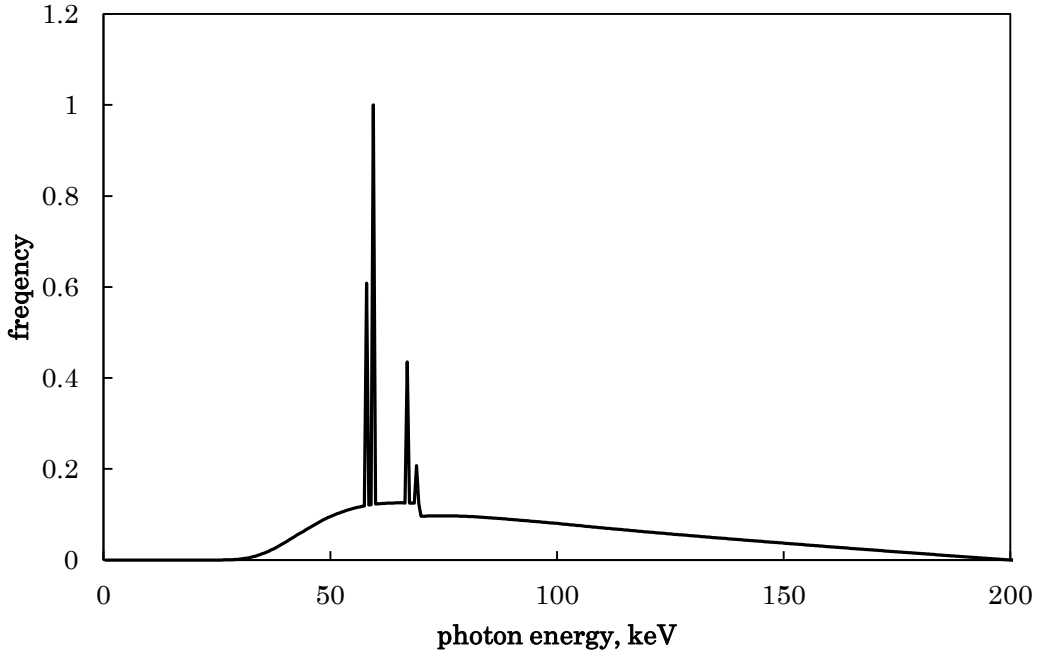


図 4.5　200kVp X 線のエネルギースペクトル
固有ろ過は 0.5mmAl、付加ろ過は 2.5mmAl + 0.5mmCu とした。
Birch and Marshall による近似式[15]を用いてスペクトルを計算した。

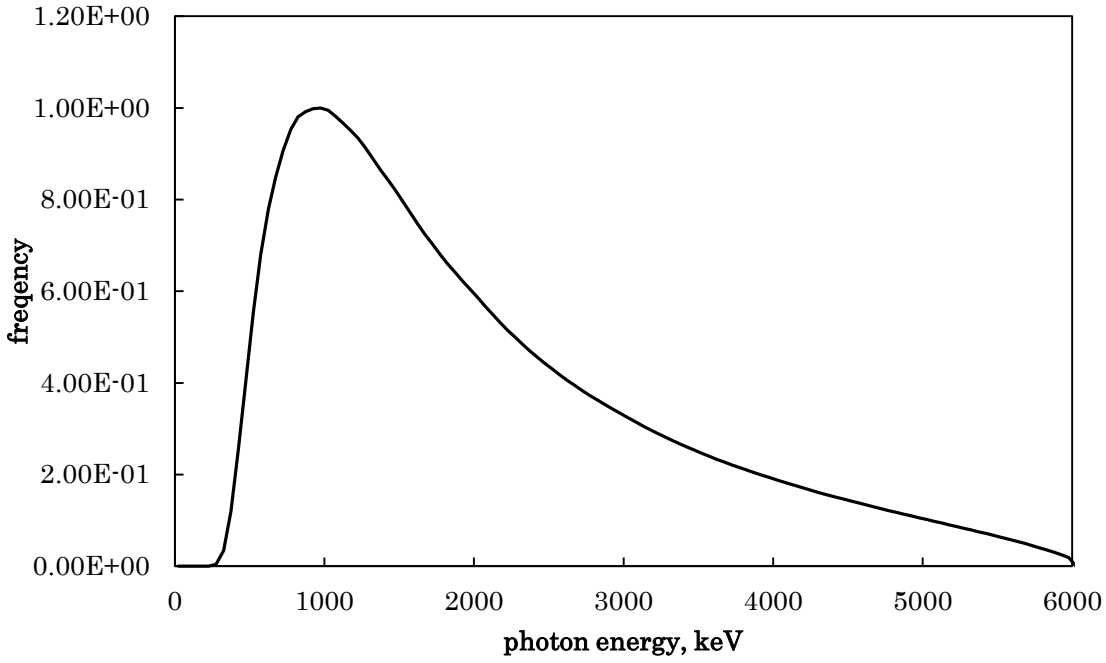


図 4.6　リニアック用 6MV X 線のエネルギースペクトル。
ターゲットの材質は銅、平坦化フィルタは 15.0mm とした。
Schiff の半理論計算式[16]を用いてスペクトルを計算した。

4.3　光子線照射による生物学的影響の解析

4.3.1　光子線により誘導される DSB を推定するモデル

光子線の照射により生じる DSB は、一次線である光子線が引き起こす DSB と二次電子（間接作用含む）が引き起こす DSB の２種であると仮定する（図 4.7）と、光子線の照射で生じる、単位吸収線量あたりに生じる DSB の総数（DSB_{tot}[Gy^{-1}cell^{-1}]）は

$$\mathrm{DSB}_{tot} = \mathrm{DSB}_{pt} + \mathrm{DSB}_{et} \qquad (4.3)$$

と与えられる。DSB_{pt}は光子線による DSB 数[Gy^{-1}cell^{-1}]、DSB_{et}は二次電子線による DSB 数[Gy^{-1}cell^{-1}]を表し、

$$DSB_{et} = \int_0^{E_{e,max}} DSB_e(E_e) \cdot f_e(E_e) dE_e \qquad (4.4)$$

で求められる。$DSB_e(E_e)$はエネルギーE_eの電子線による DSB 数[Gy^{-1}cell^{-1}]を表す。$f(E_e)$は二次電子線エネルギースペクトルを表す。この仮定に基づき、以下の手順（図 4.8）で DSB 数を算出した。

STEP1.　光子線エネルギースペクトル$f_p(E_p)$を入力データとして EGS コードで計算し、二次電子のエネルギースペクトル$f_e(E_e)$を求める。

STEP2.　細胞スケールでは、光子線のエネルギー付与が一様に分布すると仮定し、AI モデルを用いて光子線から直接生じた DSB 数 DSB（DSB_{pt}）を計算する。

STEP3.　STEP1 で求めた$f_e(E_e)$を入力データとして WLTRACK コードで二次電子のエネルギー付与の空間分布を計算、AI モデルを用いてエネルギーE_eの電子線に由来する DSB の数（$DSB_e(E_e)$）を求める。次に（4.4）式を用いて$f_e(E_e)$と$DSB_e(E_e)$から二次電子に由来する DSB（DSB_{pe}）を求める。

STEP4.　（4.3）式を用いて全 DSB 数（DSB_{tot}）を求める。

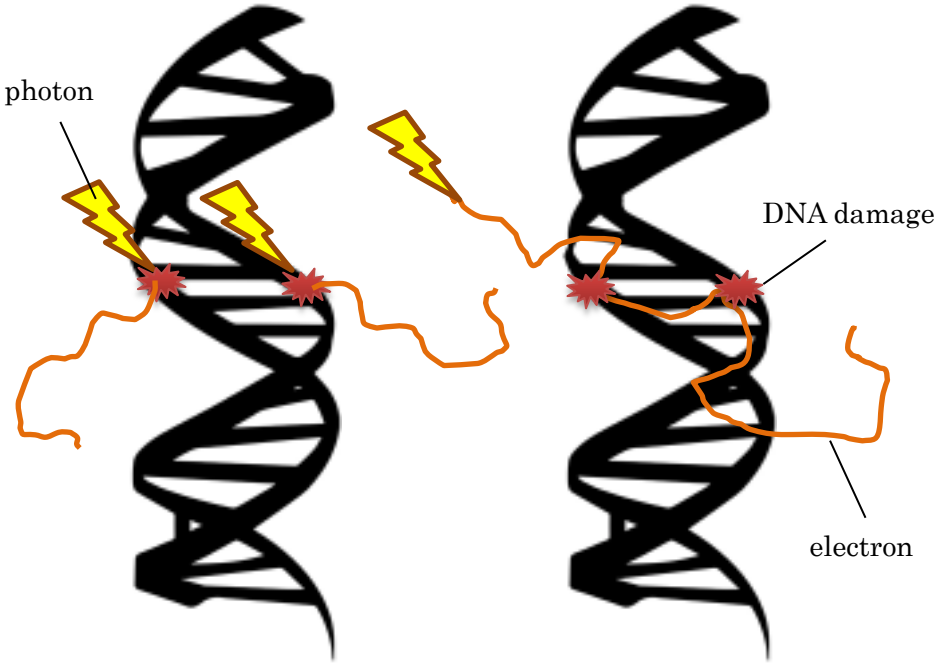


図 4.7　光子線の照射により生じる DNA 二本鎖切断（DSB）
左：２本の光子線が直接 DNA と相互作用し、DNA 二重螺旋の両方に損傷を与えて DSB が生じる。右：光子線が DNA 周辺の水分子と相互作用して二次電子を発生させ、二次電子又は二次電子から生じた OH ラジカルが DSB を誘発する。

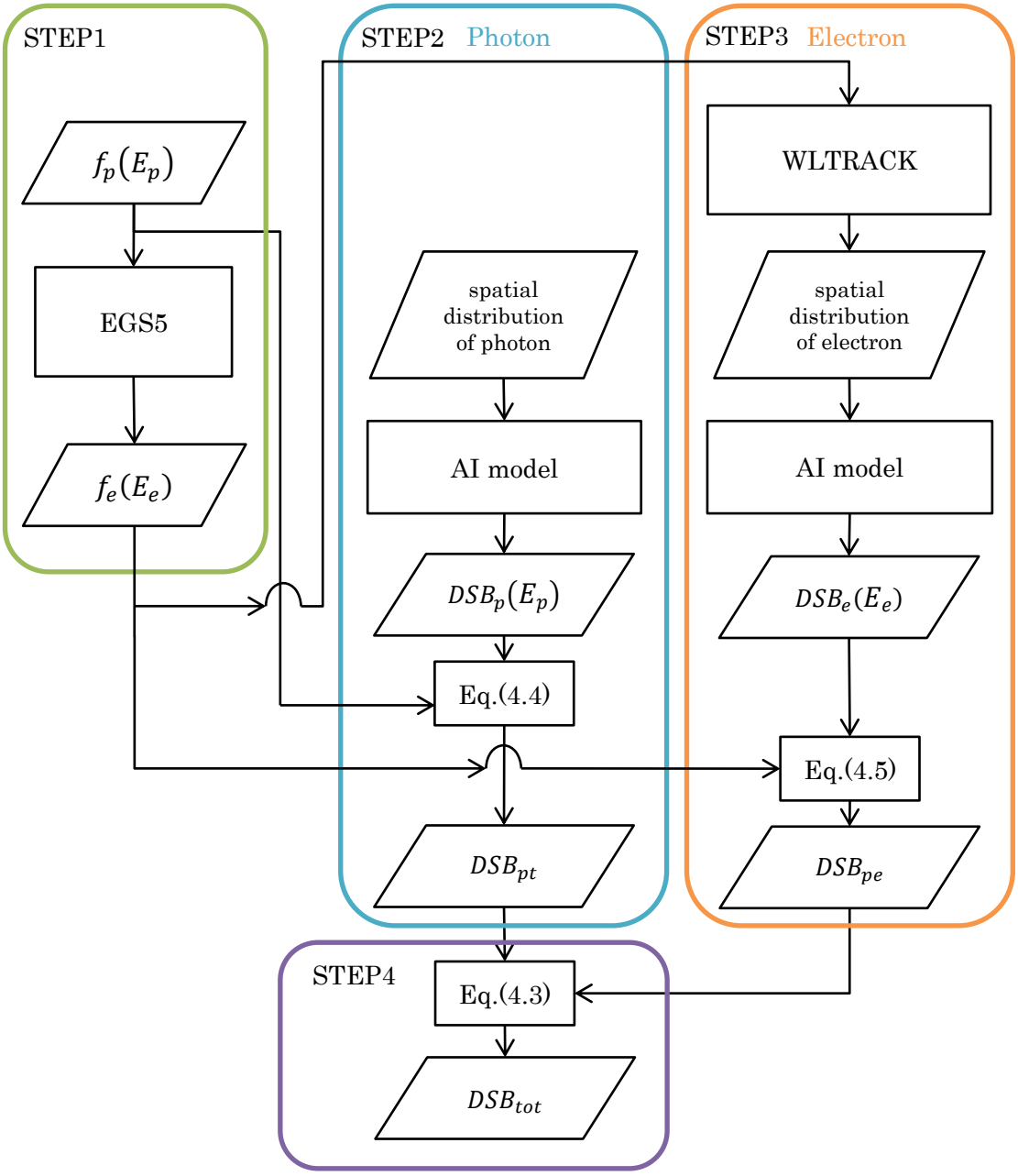


図 4.8　光子線照射による DSB 発生数推定の流れ図

4.3.2　光子線照射による二次電子（STEP1 の結果と考察）

図 4.9～図 4.12 に EGS コードで計算した光子輸送シミュレーションの結果(28kVp X 線、200kVp X 線、リニアック用 6MV X 線、Co-60 γ線の二次電子エネルギースペクトル）を示す。光子線と水の相互作用の断面積は 30keV 以下では光電効果、30keV から 26MeV ではコンプトン効果、それ以上のエネルギーでは電子対生成が主な反応である（図 4.2)。28kVp X 線の二次電子スペクトル（図 4.9）は、5keV 以上の領域では光電効果で生じた二次電子が占める。束縛エネルギーを差し引いた値が二次電子の運動エネルギーとなるため、電子線スペクトルは光子線スペクトル（図 4.4）と似た分布を示した。5keV 以下の領域はコンプトン効果により発生した電子が占めており、電子線エネルギーが増加するほど発生頻度は減少した。200kVp X 線、リニアック用 6MV X 線、Co-60 γ線のスペクトル（図 4.10～図 4.12）はコンプトン効果が主要な反応であり、エネルギーが増加するほど発生頻度は減少した。

次に深さごとのスペクトルの違いに着目する。28kVp X 線（5keV 以下)、200kVp X 線、リニアック用 6MV X 線、Co-60 γ線のスペクトルは深さごとのスペクトルの変化は小さかった。これはコンプトン効果の断面積のエネルギー依存性が小さいためである。一方で 28kVp X 線（5keV 以上）は、深部側ほど高エネルギー成分が増加しており、光子線の線質硬化の影響を確認した。

ここで算出した二次電子のエネルギースペクトルデータは、STEP3 の二次電子による DSB 数の推定で用いた。

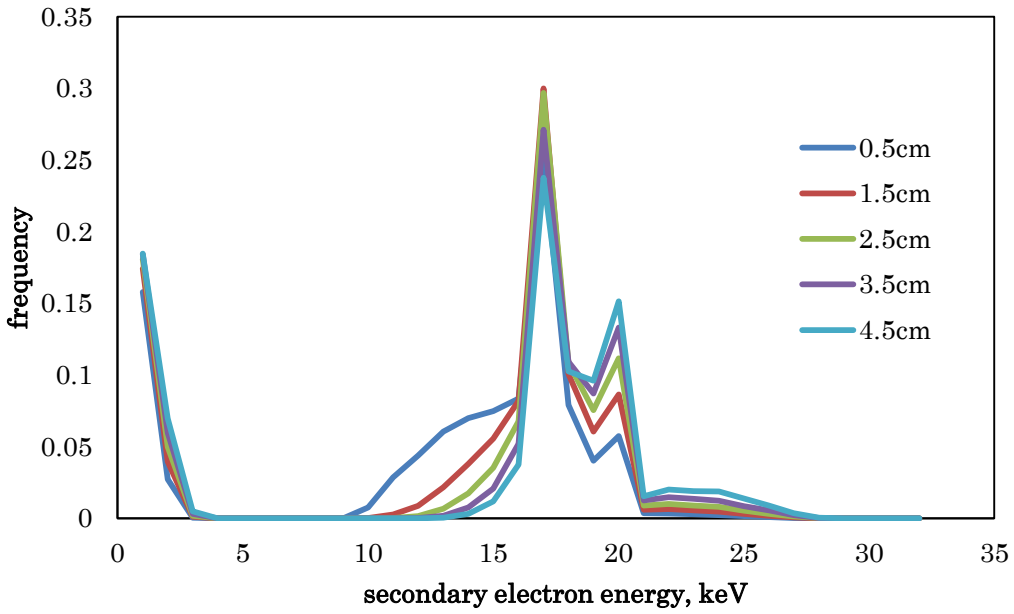


図 4.9　28kVp X 線の二次電子スペクトル
照射側ターゲット表面から 0.5cm、1.5cm、2.5cm、3.5cm、4.5cm を中心として前後 0.1cm で X 線と物質の相互作用で生成された二次電子のデータである。

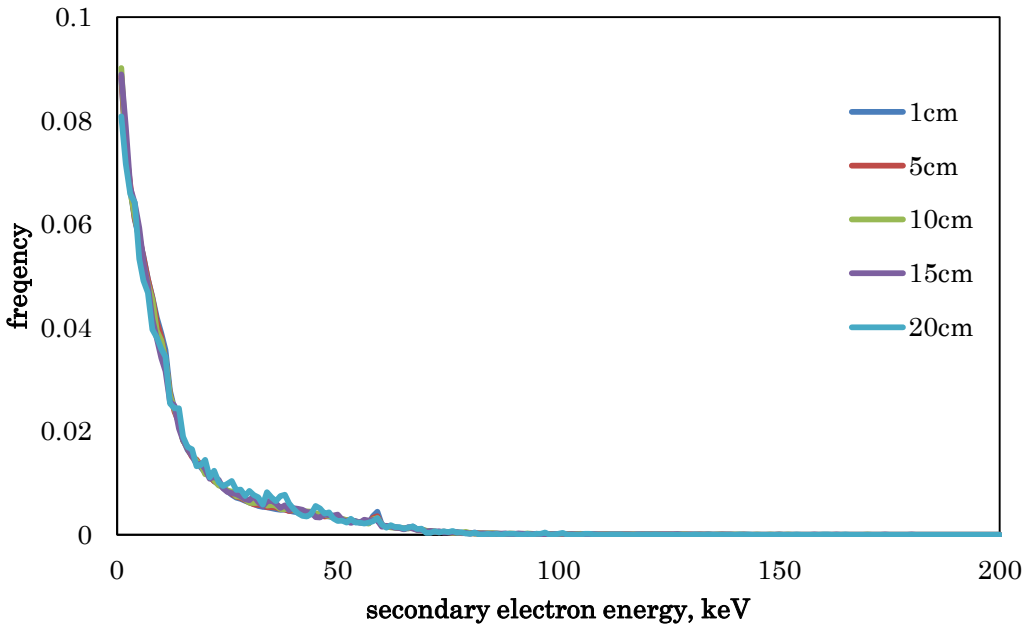


図 4.10　200kVp X 線の二次電子スペクトル
照射側ターゲット表面から 1cm、5cm、10cm、15m、20cm を中心として前後 1cm で X 線と物質の相互作用で生成された二次電子のデータである。

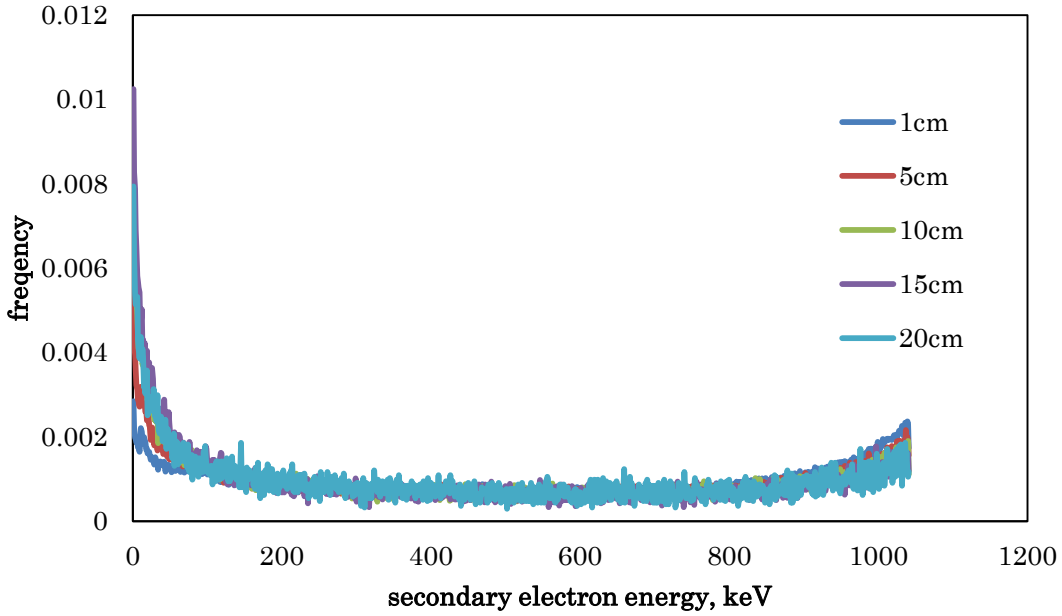


図 4.11　Co-60 γ線の二次電子スペクトル
照射側ターゲット表面から 1cm、5cm、10cm、15m、20cm を中心として前後 1cm でγ線と物質の相互作用で生成された二次電子のデータである。

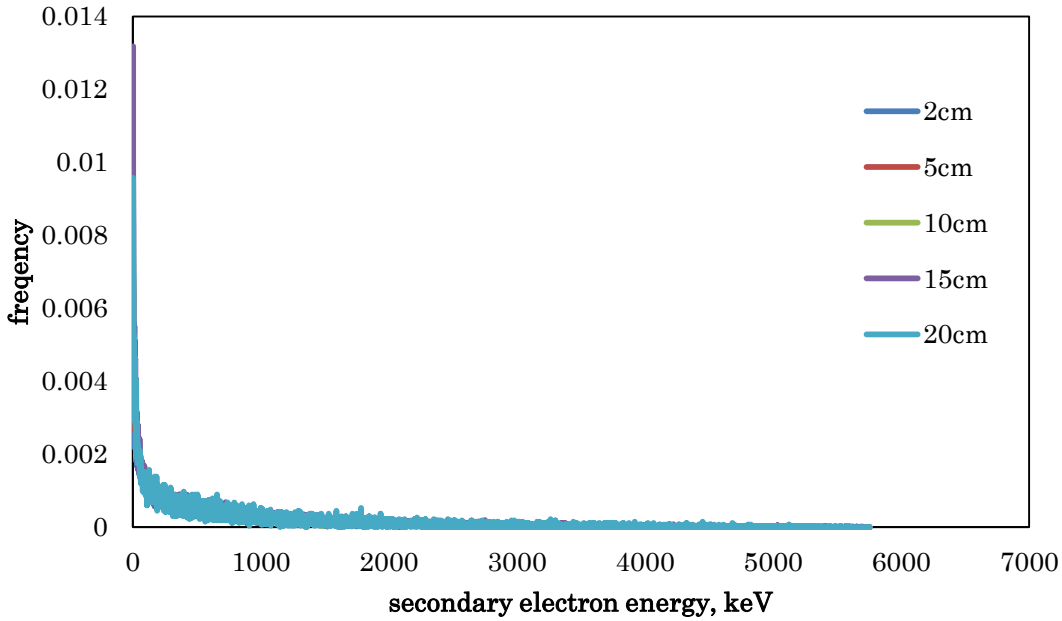


図 4.12　リニアック用 6MV X 線の二次電子スペクトル
照射側ターゲット表面から 2cm、5cm、10cm、15m、20cm を中心として前後 1cm で X 線と物質の相互作用で生成された二次電子のデータである。電子平衡領域のデータを収集するため、2cm のデータを収集した。

4.3.3 光子線が誘導する DSB（STEP 2 の結果と考察）

光子線のエネルギー付与が細胞スケールでは一様に分布すると仮定し、第３章の AI モデルを用いて光子線から直接生じた DSB 数（DSB_{pt}）を計算した。単位線量あたりに起こる細胞核内の光子の相互作用数をnとする。このとき全イベントの二点間の総数Nは$\frac{n(n-1)}{2}$となる。細胞核を半径rの球体と仮定し、光子線の相互作用が一様に分布するならば、細胞核内の相互作用の二点間距離がxになる確率は、

$$\mathrm{f}(x) = \frac{3}{16r^6}x^5 - \frac{9}{4r^4}x^3 + \frac{3}{r^3}x^2 \quad (0 < x \leq 2r) \tag{4.5}$$

と表されるため、二点間距離がε以下の確率は、

$$\begin{aligned}\mathrm{P} &= \int_0^{\varepsilon} \mathrm{f}(x)dx \\ &= \left[\frac{1}{32r^6}x^6 - \frac{9}{16r^4}x^4 + \frac{1}{r^3}x^3\right]_0^{\varepsilon} \\ &= \frac{1}{32r^6}\varepsilon^6 - \frac{9}{16r^4}\varepsilon^4 + \frac{1}{r^3}\varepsilon^3 \end{aligned} \tag{4.6}$$

となる。このとき光子の相互作用の二点間距離がε以下になる箇所（linkage）の数（AI 値）は二項分布に従うので、AI 値の平均E$[X]$と分散V$[X]$はそれぞれ

$$\mathrm{E}[X] = \mathrm{NP} \tag{4.7}$$

$$\mathrm{V}[X] = \mathrm{NP}(1 - \mathrm{P}) \tag{4.8}$$

となる。またNが十分に大きく、Pが十分に小さいならば、ポアソン分布に従い、AI 値の平均E$[X]$と分散V$[X]$はそれぞれ

$$\mathrm{E}[X] = \mathrm{NP} \tag{4.9}$$

$$\mathrm{V}[X] = \mathrm{NP} \tag{4.10}$$

となる。第３章で述べたように電子線の電離・励起事象の AI 値は DSB 数と比例関係にある。この条件が光子線に適用できるならば、光子線が DNA と直接作用して生じる平均 DSB 数は

$$\begin{aligned} DSB_{pt} &= \mathrm{k}N\mathrm{P} \\ &= \mathrm{k} \cdot \frac{n(n-1)}{2} \cdot \left(\frac{1}{32r^6}\varepsilon^6 - \frac{9}{16r^4}\varepsilon^4 + \frac{1}{r^3}\varepsilon^3\right) \end{aligned} \tag{4.11}$$

で与えられる。kは比例定数（=0.0149）を示す。次に光子線が直接 DSB を引き起こす可能性について考える。相互作用数nは(4.11)式より解の公式を用いて、

$$n = \frac{-1+\sqrt{1+\frac{8 \times DSB_{pt}}{kP}}}{2} \tag{4.12}$$

となる。$r = 5\,\mu\mathrm{m}$、$\varepsilon = 3nm$とおくと、(4.12)式より$DSB_{pt} \geq 1$のとなる相互作用数 n は、788440 回以上となる。また細胞核の吸収線量Dは、

$$D = \int_0^{E_{e,max}} n \cdot E_e \cdot f_e(E_e)dE_e \tag{4.13}$$

で与えられるため、200kVp X-ray の二次電子スペクトルデータ（図 4.8）を用いて、細胞内に 788440 回の相互作用を引き起こすために必要な吸収線量を計算すると 3375Gy となる。

このとき N=788440[2]、P=2.15927^{-10} となり、DSB_{pt}はポアソン分布に近似されるため、DSB_{pt}の分散は（4.10）式より平均と同じく 1.00 となる。光子線を照射すると 1Gy 当たり 30～70 の DSB が生じることが知られており[17]、光子線により直接生じる DSB は 3375Gy 照射したときに生じる総 DSB 数と比べて十分に小さいことが明らかである。また 3375Gy は放射線診療で被曝する線量と比べて十分に高い値である。したがって診療放射線により光子線由来の DSB が起こる可能性は低いと考えられ、光子線照射による DSB は二次電子に由来する DSB と等価とみなすことができる。このことより（4-3）式と（4-4）式から光子線照射で生じる DSB の総数は

$$\begin{aligned} DSB_{tot} &= DSB_{pt} + DSB_{pe} \\ &\cong 0 + DSB_{pe} \\ &\cong \int_0^{E_{e,max}} DSB_e(E_e) \cdot f_e(E_e) dE_e \end{aligned} \qquad (4.14)$$

と近似することができる。

4.3.4　二次電子が誘導する DSB（STEP3 の結果と考察）

図 4.11 に、**単位面積当たりの**DSB_{pe}の分布と、細胞実験を比較したグラフを示す。細胞核は半径 5μm の球形（523 μm^3）で、細胞核内には DNA が 6Gbp（6.41 μm^3）分布すると仮定し 200kVp X 線のDSB_{pe}を計算した。計算結果の分布は細胞実験データと概ね一致したが、計算結果の平均値は 0.350(DSB/μm^3)、細胞実験データは 0.323(DSB/μm^3)であり、計算結果は細胞実験よりおよそ一割高い値を示した。γ-H2AX foci　:DSB＝1 : 1 とされているが、Cucinotta らは現象数理学的に修復前の DSB はγ-H2AX foci より多くことを報告している[18]。その中で 1Gy 程度の照射で観測されるγ-H2AX foci は、実際の DNA 切断数（DSB 数）よりおよそ一割小さいことを指摘しており、本研究の結果はこれと同じ傾向を示した。このことより、計算結果は実際の DNA 切断数を表し、光子線照射で生じる DSB の大部分は二次電子により発生していると考えられ、4.3.2 節で示した（4.14）式は光子線照射による DSB を推定式として妥当であることが確認できた。

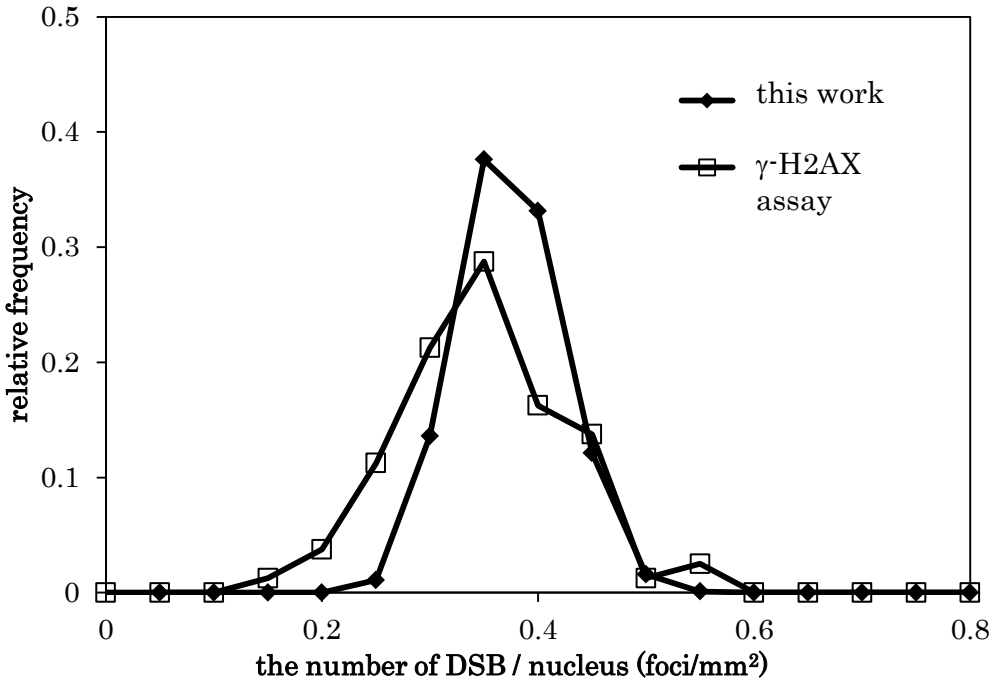


図 4.13　二次電子に由来する DSB 数（DSB_{pe}）の分布と細胞実験の値の比較
照射条件は 200kVpX-rays を 1Gy である。細胞実験は本研究室で行ったγ-H2AX assay の結果である。細胞は CHO-K1 を使用した。照射 30 分後のγ-H2AX foci 数を DSB 数とした。また細胞のサイズは個体差があるので、顕微鏡から観察される細胞の面積で除して、単位面積当たりの DSB 数で評価した。

4.3.5　光子線照射で生じる DSB の比較（STEP4 の結果）

次に（4.14）式を用いて算出した DSB に基づき、計算した生物学的効果比 Relative Biological Effeteness（RBE）を示す（表 4.2、表 4.3）。RBE は、線質に対する放射線リスクを比べるために用いられ、荷重係数の選択の手引きとなるものである。RBE は以下のように定義した。

$$\mathrm{RBE} = \frac{\mathrm{DSB}_{pe,Q}}{\mathrm{DSB}_{pe,Co-60}} \qquad (4.15)$$

ここで、$\mathrm{DSB}_{pe,Co-60}$は基準放射線（Co-60 γ線又 200kVp X 線）で生じた二次電子による DSB 数、$\mathrm{DSB}_{pe,Q}$は対象とする線質Qで生じた二次電子による DSB の数を表す。乳腺撮影用 X 線の比較データは Kühne らによる pulsed-field gel electrophoresis、PFGE による細胞実験（ヒト皮膚線維芽細胞 HSF2）の結果と Bernal らによる Monte Carlo simulation の結果である。放射線治療用 X 線の比較データは、Matsuya らが行ったγ-H2AX assay による細胞実験（チャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-K1 とヒト非小細胞肺がん細胞 H1299）の結果である。

乳房撮影用 X 線は基準放射線（Co-60 γ線）より高い値を、放射線治療用 X 線は基準放射線（200kVp X 線）より低い値を示し、比較した文献データと概ね一致する傾向がみられた。これらの結果より、本研究の光子線及び二次電子のエネルギー付与の空間分布を考慮に入れた計算モデルを用いることにより、診療用光子線による DSB 数を推定することが可能であることが示唆された。しかし本研究結果の RBE は、細胞実験データと比べ、わずかに高い値を示した。これは前節で述べたように、実際の細胞実験では DSB 修復機構が働くため、計算から求めた DSB より低い値になるからであると考えられる。

表 4.2　乳房撮影用 X 線の RBE（RBE の基準放射線を Co-60 γ線とする）

Quality	RBE	Comment
28kVp (Mo/Mo) X-rays	1.24	this work
29kVp (W/Rh) X-rays	1.15±0.05[4]	PFGE, HSF2
28kVp (Mo/Mo) X-rays	1.3±0.1[19]	MC simulation
30kVp (Mo/Mo) X-rays	1.2±0.1[19]	MC simulation
Co-60	1	reference radiation

表 4.3　放射線治療用 X 線の RBE（RBE の基準放射線を 200kVp X 線とする）

Quality	RBE	Comment
Linac-6MV X-rays	0.82	this work
Linac-6MV X-rays	0.77±0.26[20]	γ-H2AX assay, CHO-K1
Linac-6MV X-rays	0.65±0.24[20]	γ-H2AX assay, H1299
200kVp X-rays	1	reference radiation

4. まとめ

本章では、第３章で述べた AI モデルをさらに発展させ、光子輸送及び電子輸送の MC 法と AI モデルを組み合わせ光子線照射で発生する DSB を解析した。その結果、以下の知見を得ることができた。

1. 診療用 X 線の線量域で、細胞核内で一様に分布する光子線が直接 DSB を誘発する可能性は極めて低いことが判明した。
2. 本研究で構築したモデルから DSB 数を計算した結果、光子線照射による DSB は、二次電子によって生成されることがわかった。但し計算では DSB 修復を考慮していないので、実験値より値が高く出力されることに注意を要する。
3. 診療用 X 線の RBE を見積もった結果、新しいモデルの計算値は実験値と概ね一致し、線質の違いによる RBE の変動を再現することができた。

参考文献

[1] Hawkins, RB. (2003). A microdosimetric-kinetic model for the effect of non-Poisson distribution of lethal lesions on the variation of RBE with LET. radiation research, 160(1), 61-69.

[2] Hill, MA. (2004). The variation in biological effectiveness of X-rays and gamma rays with energy. radiation protection dosimetry, 112(4), 471-481.

[3] Nikjoo, P. O'Neill, DT Goodhead & M. Terrisol, H. (1997). Computational modelling of low-energy electron-induced DNA damage by early physical and chemical events. international journal of radiation biology, 71(5), 467-483.

[4] Kühne, M., Urban, G., Frankenberg, D., & Löbrich, M. (2005). DNA double-strand break misrejoining after exposure of primary human fibroblasts to CK characteristic X rays, 29 kVp X rays and 60Co γ rays. Radiation research,164(5), 669-676.

[5] Bernal, MA., David, M., & Pires, E. (2011). Estimation of the RBE of mammography-quality beams using a combination of a Monte Carlo code with a B-DNA geometrical model. Physics in medicine and biology, 56(23), 7393.

[6] Frankenberg, D., Kelnhofer, K., Bär, K., & Frankenberg-Schwager, M. (2002). Enhanced neoplastic transformation by mammography X rays relative to 200 kVp X rays: indication for a strong dependence on photon energy of the RBEM for various end points. Radiation research, 157(1), 99-105.

[7] Mestres, M., Caballín, MR., Barrios, L., Ribas, M., & Barquinero, JF. (2008). RBE of X rays of different energies: a cytogenetic evaluation by FISH. Radiation research, 170(1), 93-100.

[8] Berger, MJ., Hubbell, JH., Seltzer, SM., Chang, J., Coursey, J. S., Sukumar, R., et al. (1998). XCOM: photon cross sections database.NIST Standard reference database, 8(1), 3587-3597.

[9] Hirayama, H., Namito, Y., Nelson, WR., Bielajew, AF., Wilderman, SJ., & Michigan, U. (2005). The EGS5 code system (No. SLAC-R-730). United States. Department of Energy.

[10] Sakamoto, Y., “Photon cross section data PHOTX for PEGS4 code,” in Proc. Third EGS4 Users’ Meeting Japan, 1993, pp. 77–82.

[11] Firestone, RB., Shirley, VS., Baglin, CM., Chu, SF., & Zipkin, J. (1997). The 8th edition of the Table of Isotopes. In Proceedings of the 9th International Symposium on Capture gamma-ray spectroscopy and related topics. V. 2.

[12] Klein, O., & Nishina, Y. (1929). Über die Streuung von Strahlung durch freie Elektronen nach der neuen relativistischen Quantendynamik von Dirac.Zeitschrift für Physik, 52(11-12), 853-868.

[13] Bethe, H., & Heitler, W. (1934). On the stopping of fast particles and on the creation of positive electrons. In Proceedings of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences (Vol. 146, No. 856, pp. 83-112). The Royal Society.

[14] Verhaegen, F., & Reniers, B. (2004). Microdosimetric analysis of various mammography spectra: lineal energy distributions and ionization cluster analysis. Radiation research, 162(5), 592-599.

[15] Birch, R., & Marshall, M. (1979). Computation of bremsstrahlung x-ray spectra and comparison with spectra measured with a Ge (Li) detector. Physics in Medicine and Biology, 24(3), 505.

[16] Schiff, LI. (1951). Energy-angle distribution of thin target bremsstrahlung.Physical Review, 83(2), 252.

[17]Nikjoo, H., & Lindborg, L. (2010). RBE of low energy electrons and photons. Physics in medicine and biology, 55(10), R65.

[18] Cucinotta, FA., Pluth, JM., Anderson, JA., Harper, JV., & O'Neill, P. (2008). Biochemical kinetics model of DSB repair and induction of γ-H2AX foci by non-homologous end joining. Radiation research, 169(2), 214-222.

[19] Bernal, MA., David, M., & Pires, E. (2011). Estimation of the RBE of mammography-quality beams using a combination of a Monte Carlo code with a B-DNA geometrical model. Physics in medicine and biology, 56(23), 7393.

[20] Matsuya, Y., Ohtsubo, Y., Tsutsumi, K., Sasaki, K., Yamazaki, R., & Date, H. (2014). Quantitative estimation of DNA damage by photon irradiation based on the microdosimetric-kinetic model. Journal of radiation research, 55(3), 484-493.

第５章

結論

本研究では､主としてX線による生物学的影響の初期で発生するDNA二本鎖切断(DSB)に対し、電子線のエネルギー付与間距離に着目した新しいモデルを構築し、医療被ばくによるDSBの発生の機構解明を試みた。このようなエネルギー付与間距離に基づきDSBが起こる確率を解析する研究は世界に類を見ないものである。第２章から第４章までに新規に得られた知見を以下に要約する。

第２章　電子線による電離・励起事象の凝集特性を解析するモデルの開発

第２章では電子線の物理モデルや、モンテカルロ法（MC法）を用いた電子輸送シミュレーションのアルゴリズム、イベント事象の二点間距離に着目したDensity-Based Spatial Clustering of Applications with Noise (DBSCAN) アルゴリズムとAggregation index（AI）の基本概念を解説すると共に、電子線によるエネルギー付与（電離と励起）事象の凝集度を解析するモデルの提案と検証を行った。

(1) DBSCANアルゴリズムの導入により、電子輸送のMC法で取得したエネルギー付与事象の空間分布からエネルギー付与が凝集している領域（クラスター）の抽出することができた。さらにクラスター内エネルギー付与数とAIの関係を明らかにした。

(2) AIの導入により、電子線及びそのクラスターのエネルギー付与の凝集度の定量できるようになった。その結果、電子線のエネルギー付与の凝集は、入射エネルギー依存性があり、0.4keVで最大になることが示唆された。

(3) 上記に加えて、AIを用いた化学的過程の時空間的変化を解析により、ラジカルが発生してから1000psec経過すると隣接するラジカルは急激に減少し、100000psecまでに10nm 以内に隣接するラジカルがほとんど存在しないことがわかり、DNA 二本鎖切断（DSB）は電子線の飛跡近傍で発生することが推測された。

第３章　電子線によるDSBの発生

第３章では、第２章で開発した電子線トラックの凝集度を解析するモデルを発展させDSBを推定するシンプルなモデルを提案し、電子線照射によるDNA二本鎖切断（DSB）の特性を調べた。さらに新しいモデルの妥当性あるいは限界についても議論を試みた。

(4) 従来法のMC法を用いた計算では、電子輸送に加えてラジカルのシミュレーションを行うため、計算時間が膨大になる欠点があった。本研究では電子線のエネルギー付与の凝集度とDSB効率のエネルギー依存性が同じ傾向を示すことを発見し､ラジカルの計

算を行うことなく、DSB 効率を推定することを可能とし、計算時間の大幅な軽減をすることができた。

(5) ただし、提案したモデルは、ラジカルの防護作用をもつクロマチンファイバー構造の DNA のデータと一致することを確認したものであるため、クロマチンファイバー構造を持たない DNA の DSB 推定に適用すべきではない。また AI 値は電子線の飛跡の重複を考慮していないため、1000Gy 以下で適用すべきである。

(6) 電子線のクラスターを分析したところ、クラスター内エネルギー付与数と DSB 数は概ね比例関係にあることが分かった。また 0.8keV の電子線は、クラスター内エネルギー付与数が多いクラスターのできる確率が最大となることがわかり、運動エネルギーが 0.8keV に低下した電子線飛程の終端部では DSB が起こる確率が高いことが示唆された。

第４章　X 線による DSB の発生

第４章では、第３章で述べた電子線による DSB の推定モデルを、光子輸送の MC 法を組み合わせて、光子線照射で発生する DSB の解析に応用した。

(7) 本研究で構築したモデルから DSB 数を計算した結果、光子線照射による DSB は、二次電子によって生成されること、X 線の一次電離のみで DSB が生成されている可能性は極めて低いことを明らかにした。ただし、計算では DSB 修復を考慮していないので、実験値より計算値が高く出力されることに注意を要する。

(8) 診療用Ｘ線のRBEを見積もった結果、新しいモデルの計算値は実験値と概ね一致し、線質の違いによる RBE の変動を再現することができた。

今後の展望

本研究でモデル化を行った過程は放射線による生物学的影響のメカニズムの一部である。より包括的に放射線の影響を解析するためには、DSB 修復や染色体異常など生物学的過程を再現する必要がある。本研究では電離密度が高い領域を抽出し、そこで起こる DSB の発生確率を推定した。今後は細胞核内の DSB の分布を推定できるモデルに改良することで、DSB の空間分布と染色体異常の発生の関係の解明することができると考える。

謝辞

本研究の全過程を通じ、直接御指導を賜りました北海道大学大学院保健科学研究院伊達広行教授に厚く御礼申し上げます。また研究の進行また本論文をご精読いただき、御助言賜りました北海道大学大学院保健科学研究院小笠原克彦教授、坂田元道准教授に深く感謝申し上げます。副指導教員である北海道大学大学院保健科学研究院堤香織助教には、御助言と激励をいただきました。ここに感謝の意を申し上げます。

有意義且つ的確な助言をしていただきました北海道科学大学保健医療学部診療放射線学科佐々木恒平准教授には深く感謝申し上げます。そして同研究室のすべての皆様、なかでも松谷悠佑君にはディスカッションを通し，様々な局面にて多大なるご協力いただきました。心より感謝申し上げます。また社会人学生として、温かく見守っていただきました札幌医科大学医学部教育研究機器センターラジオアイソトープ部門の皆様に感謝申し上げます。最後に、論文をまとめるにあたり、明るく励まし続けてくれた家族に心からの謝意を記します。

業績リスト

学術論文

1. Yoshii, Y., Sasaki, K., Matsuya, Y., & Date, H. (2015). Cluster analysis for the probability of DSB site induced by electron tracks. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 350, 55-59. doi:10.1016/j.nimb.2015.03.025

学会発表

1. 吉井勇治, 佐々木恒平, 伊達広行. “モンテカルロシミュレーションによる放射線の間接効果の基礎的検討”,日本放射線技術学会北海道部会学術大会第 68 回秋季大会, 抄録集 pp.64 (Oral 発表), 札幌, 日本, 2012.11.24-25.
2. 吉井勇治, 佐々木恒平, 伊達広行. “光子線照射による DSB 誘導と二次電子の空間分布の関係”, 第 106 回日本医学物理学会学術大会, 抄録集 pp.76 (Oral 発表) , 大阪, 日本 2013.09.16-18.
3. 吉井勇治, 佐々木恒平, 三浦貴智, 伊達広行. “モンテカルロ法を用いた 28kVp X 線の生物学的効果比の推定”, 日本放射線影響学会第 56 回大会, 抄録集 pp96 (Oral 発表) , 青森, 日本, 2013.10.18-20.
4. 吉井勇治, 佐々木恒平, 三浦貴智, 松谷悠佑, 伊達広行. “モンテカルロ法を用いた光子線の生物学的線量の推定”, 日本放射線技術学会北海道部会学術大会第 69 回秋季大会, 抄録集 pp.30 (Oral 発表) , 旭川, 日本, 2013.11.9-10.
5. Y Yoshii, K Sasaki, Y Matsuya, H Date. “Estimation of DNA Damage under Low-LET Irradiation according to Distribution of Distance between Interaction’s Events using Monte Carlo Simulation”, 41th Annual Meeting of the European Radiation Research Society, Paradise Mare Conference Centre, Aldemar Hotel, Rhodes, Greece. p21 (Poster)5, 2014.9.14-19
6. Y Yoshii, Y Matsuya, K Sasaki, H Date. “A Computational Approach to the DNA Damage Induced by Electron Tracks using The DBSCAN Algorithm” , 1st meeting of educational symposium of radiation and health (ESRAH), Hirosaki, Aomori, Japan. pp36(Oral and Poster), 2014.09.21-22.
7. 吉井勇治, 松谷悠佑, 佐々木恒平, 伊達広行. “微視的エネルギー付与の空間分布が及ぼす DNA 二本鎖切断の誘導への影響”, 第 42 回日本放射線技術学会秋季学術大会, 報文集 pp.986, 札幌, 日本, 2014.10.9-11
8. Y Yoshii, Y Matsuya, K Sasaki, H Date. ” EFFECTS OF SECONDARY ELECTRONS ON DNA DOUBLE-STRAND BREAKS AFTER PHOTON IRRADIATION”, 2nd meeting of educational symposium of radiation and health (ESRAH), Hirosaki, Aomori, Japan. (Poster) pp33, 2015.05.23-24.