

マウス小腸腺窩細胞の分裂遅延, アポトーシス高感受性細胞群生存率 およびコロニー形成能をエンドポイントとした炭素線ビームのRBE

場崎 潔*¹, 阿部 出直*¹, 立崎 英夫*², 赤井澤 隆*³, 安藤 総一郎*⁴, 安藤 興一*⁴

RELATIVE BIOLOGICAL EFFECTS OF CARBON ION BEAMS ON MOUSE INTESTINAL CRYPTS

Kiyoshi BASAKI*¹, Yoshinao ABE*¹, Hideo TATSUZAKI*², Takashi AKAIZAWA*³,
Soichiro ANDO*⁴, Koichi ANDO*⁴

(Received 9 July 1997, accepted 13 November 1997)

Abstract: The relative biological effect (RBE) of carbon ion beams on mouse intestinal crypt cells were studied. Survival fractions of apoptotic sensitive cells, mitotic delay and colony assay were used for endpoints. Female C3H mice were total body irradiated using a carbon ion beam (290 MeV/u, 6 cm SOBP) at the National Institute of Radiological Science. For counting apoptosis and mitosis, the animals were irradiated either at LET of 70 keV/mm or 40 keV/mm. Fifteen minutes after irradiation, the mice received vincristine sulfate (0.8 mg/kg) and were sacrificed 2 hours and 45 minutes later. For colony assay, the animals were irradiated at an LET of 70 keV/mm and were sacrificed 3.5 days later. Jejunum were excised, fixed and cut into slices. The slides were stained with Hematoxylin and Eosin. Apoptosis - pyknotic cell - and mitosis were counted and survival fractions of apoptotic sensitive cells and mitotic delay time were obtained. The number of colonies were counted and survival fractions per circumference were obtained. Using these endpoints, RBEs were obtained. For survival fractions of apoptotic sensitive cells, no LET difference was observed and RBE was 1.7. For mitotic delay time, RBE was 2.3 and 1.7 at an LET of 70 keV/mm and 40 keV/mm, respectively. For colony assay, the RBE was 2.0-2.1. The different RBEs from three endpoints of the jejunal crypt may reflect each nature of the radiosensitivity to the carbon ion beam. In summary that mitotic delay time exhibited the same RBE as colony assay and RBE regarding apoptosis was less than those RBEs.

key words: RBE, Jejunal crypt, Heavy ion radiotherapy

はじめに

重粒子線の特徴はBragg-Peakとhigh LETにある。これらの性質により、光子線照射に比べ、目的とする臓器に局限した照射が可能になり、同一線量の照射でより高い効果が得られる。重粒子線治療

が難治癌克服への新しい治療法としての期待が寄せられている。

マウスの小腸腺窩では、低線量照射によりアポトーシスの増加と分裂時間の遅延とが観察される¹⁾⁹⁾。10 Gy以上の高線量照射では腺窩細胞の大部分は死滅するが、生き残った腺窩細胞はやがて再増殖

*¹ 弘前大学医学部放射線医学教室 (〒036-8216 弘前市在府町5)
Department of Radiology, Hirosaki University School of Medicine (5 Zaifu-cho, Hirosaki 036-8216)

*² 東北大学加齢医学研究所機能画像医学研究分野
Department of Radiology, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University

*³ 筑波大学臨床医学系放射線医学
Department of Radiology, Tsukuba University School of Medicine

*⁴ 放射線医学総合研究所第三研究グループ
Space and Particle Radiation Science Research Group, National Institute of Radiological Sciences

を始め、腸管壁には増殖した腺窩細胞のコロニーが観察される⁽¹⁰⁻¹³⁾。放射線に対する小腸腺窩のこのような性質を用い、LET毎のRBEを求めるために以下の実験を行った。この研究では、重粒子線照射装置（放射線医学総合研究所）の炭素線ビームの2つの異なったLETでマウスに照射し、小腸（空腸）腺窩の分裂像とアポトーシスを数えた。これから分裂遅延時間とアポトーシス高感受性細胞群の生存率^(4, 14)を計算しRBEを求めた。また、コロニー法を用いて治療領域LETでのRBEを求めた。

材料と方法

1. アポトーシスと分裂像

生後8週の雌C3H/Heマウスを用いた。重粒子線照射装置の炭素線ビーム（290MeV/u, 6 cm SOBP-Spread Out Bragg Peak）のLET 40 keV/ μ mとLET 70 keV/ μ mを用いた。マウスを専用のジグに固定し無麻酔下で全身照射した。これとは別に、⁶⁰Co装置（日立メディコ製） γ 線（線量率1.875 Gy/min.）による照射を行った。各線量毎に炭素線は4匹に、 γ 線は3匹づつに照射した。照射15分後に硫酸ビンクリスチン（0.8 mg/kg）をマウスの腹腔内に投与し、2時間45分後に頸椎脱臼で屠殺した。対照群はビンクリスチン投与2時間45分後に屠殺した。屠殺後に摘出した小腸を10 %ホルマリン液にて固定し、腸の横断面が得られるように4 μ m厚の組織切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色（H・E染色）した。

小腸腺窩に見られる塩基好性核凝集濃染像をアポトーシスとして数えた。核断片化がみられた場合でも、核断片の数をそのままアポトーシスの数とした。ビンクリスチンにより分裂期で停止した分裂細胞を数えた。

小腸腺窩のうち、内腔がよく同定でき、長軸方向にきれいに底部から切断され、17個以上の細胞が連続して観察できる腺窩列を観察の対象とした。1匹のマウスから得られた標本につき、50個の小腸腺窩の分裂像とアポトーシスを数え、単位腺窩当たりの平均値として求めた。アポトーシス高感受性細胞群の生存率はPottenの方法^(4, 14)で求めた。照射後、小腸腺窩に見られるアポトーシスは、一定線量までは照射線量の増加に伴いその増加が

見られるが、一定線量以上の照射ではアポトーシスの数はプラトーに達し、それ以上の増加は見られなくなる。これは、小腸腺窩では照射後にアポトーシスを起こす細胞群（アポトーシス高感受性細胞群）が、一定線量以上の照射ではすべてアポトーシスを起こすと考えられるためである。一定線量以上の照射で得られたアポトーシス数をアポトーシスのプラトー値と考え、以下の式を用いてアポトーシス高感受性細胞群の生存率を計算した。

$$As = (Am - Ax) / (Am - Ac)$$

As=アポトーシス高感受性細胞群の生存率

Ax=求める照射線量のアポトーシス

Ac=対照群のアポトーシス

Am=アポトーシスのプラトー値

ビンクリスチンにより停止する分裂像は流入する細胞数が一定であるならば、照射後の分裂遅延からの回復後の時間と停止した分裂細胞数との間に比例関係がなりたつ。非照射群の分裂細胞数増加分と照射後に分裂停止した後に回復する分裂細胞数の増加分が一定であると考えることができる²⁾。したがって分裂遅延時間は、ビンクリスチン投与後一定時間に蓄積した分裂細胞数と照射後分裂停止した後に回復してきた分裂細胞数の比から求めることができるので、以下の式を用い計算した。

$$Mt = T (1 - Mx / Mc)$$

Mt=分裂遅延時間(Mitotic delay time) (min.)

T=165 (min.)

Mc=対照群の分裂細胞数

Mx=照射群の分裂細胞数

アポトーシスに高感受性細胞群の生存率、分裂遅延時間をエンドポイントとして、それぞれのLETによるRBEを求めた。

2. コロニー法

炭素線ビームは、LET 70 keV/ μ mを用い、無麻酔下で全身照射した。また、X線照射装置（MBR-1505R2, 日立メディコ, 150 kV/5 mA, Al 1.0 mm + Cu 0.2 mm）を用い、X線（線量率0.8

Gy/min.) による照射を行った。炭素線は各線量毎に4~5匹に、X線は3~4匹づつに照射した。マウスを照射3.5日後に頸椎脱臼により屠殺した。実験1と同様に、摘出した小腸を10%ホルマリン液にて固定し、小腸の横断面が得られるように4 μm 厚の組織切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色した。

腸管が断裂なく全周性に良く同定出来るものにつき、炭素線では一照射群あたり19~27スライスの、X線照射群では15~26スライスの腸管を数えた。増殖腺窩はWithers&Elkindの方法¹¹⁾により求めた。照射3.5日目におけるエオジン好性の肥厚した10個以上の細胞が観察される増殖腺窩を数え、照射群ごとに腸管1周毎の増殖腺窩数の平均値を求め、腸管1周毎の生存細胞数に変換した。

結 果

1. アポトーシスと分裂像

1) アポトーシス

ビンクリスチンのアポトーシスへの影響につき検討した。ビンクリスチン使用群のアポトーシスは炭素線照射群は 0.25 ± 0.04 、 γ 線照射群は 0.33 ± 0.06 であった。ビンクリスチンを投与していないマウスのアポトーシスは 0.21 ± 0.17 であった。このことからビンクリスチン投与後2時間45分ではアポトーシスへの影響はないと考えた。

炭素線照射群及び γ 線照射群で、照射線量の増加に伴いアポトーシスの増加が観察された。アポトーシス高感受性細胞の総数として、 γ 線10 Gy照射の値を用い、各照射群ごとにアポトーシス高感受性細胞群の生存率を計算した (Fig. 1)。

これより求めたアポトーシスを50%まで減少させる線量は、LET70、40 keV/ μm 及び γ 線において0.81 Gy、0.84 Gy、1.42 Gyであった。このことから、アポトーシス高感受性細胞群では、炭素線のLETによる差は観察されなかった。アポトーシスに高感受性な細胞群の50%生存率をエンドポイントとした炭素線のRBEは、LET 70及び40 keV/ μm ともに1.7であった (Table 1, 2)。

2) 分裂像

炭素線照射群と γ 線照射群のそれぞれで、照射線量の増加にともない分裂細胞数の減少が見られ

る。炭素線照射群では0~0.9 Gy、 γ 線照射後では0~2 Gyの範囲のデータを用い、それぞれの照射群ごとに分裂細胞数から分裂遅延時間を計算した (Fig. 2)。炭素線と γ 線照射群のそれぞれで、照射線量の増加に伴い分裂時間の遅延が観察された。炭素線照射群では γ 線照射群に比べより低い線量で分裂遅延時間の増加が見られ、また、LETの増加に伴いその傾きも急峻なものとなっている。

2時間の分裂遅延時間を示す線量は炭素線 (LET 70 keV/ μm) で0.69 Gyであり、炭素線 (LET 40 keV/ μm) で0.92 Gyであり、 γ 線で1.59 Gyであった。2時間の分裂遅延時間を示す線量で比較したRBEは炭素線 (LET 70 keV/ μm) で2.3であり、炭素線 (LET 40 keV/ μm) で1.7であった (Table 1, 2)。

2. コロニー法

小腸腺窩のコロニー数から一腸管断面当りの生存細胞数を計算した (Fig. 3)。このグラフより、生存細胞数を50%まで減少させる炭素線及びX線の線量は、それぞれ6.8 Gy、13.6 Gyで、RBEは2.0であった。また、炭素線及びX線の D_{01} は、それぞれ1.02 Gy、2.18 Gyであり、 D_{01} 値のRBEは2.1であった (Table 1)。

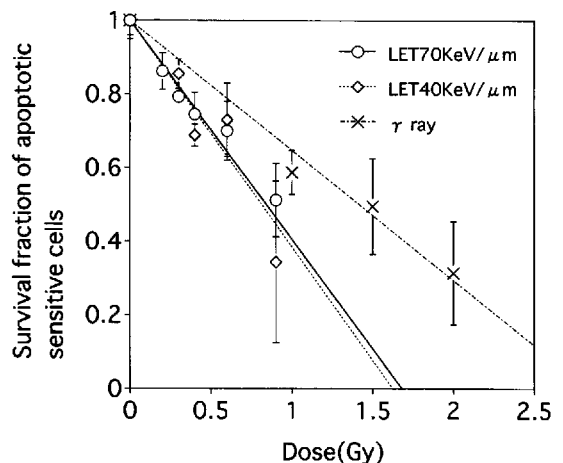


Fig. 1 Survival fraction of apoptotic sensitive cells plotted against irradiated dose.

考 察

小腸腺窩は放射線照射後に多数のピクノーシスがみられる³⁾。非常に高感受性¹⁴⁾であり、形態的にも代謝的¹⁾にも今でいうアポトーシスと同義であると考えられる。したがって本研究ではH・E染色による核濃縮像をアポトーシスとした。また、断片化がみられることがアポトーシスの特徴であるが、断片化が1個の細胞からきたか、数個の細

胞から出現したか判定できないので、これをおのおの1個のアポトーシスとして数えた。多少過大評価傾向にあると考えてよい。

アポトーシスは主に増殖状態にある幹細胞の細胞周期のある特定の時期(G2期, G1早期)に放射線感受性が高い⁴⁾とされている。一定量の線量が照射されると、一時的に高感受性にある細胞が破壊し尽くされ、それ以上の高線量を照射してもアポトーシスは増えなくなる^{4), 14)}。これをもとに

Table 1 RBE of carbon ion beam (70 keV/ μ m)

	Carbon Beam (70keV/ μ m)	γ -ray	X-ray	RBE
Apoptotic Sensitive Cells				
50% survival	0.81 Gy	1.42 Gy	-	1.7
Mitotic Delay Time				
120 min.	0.69 Gy	1.59 Gy	-	2.3
Colony Assay				
Do	1.02 Gy	-	2.18 Gy	2.1
50% survival	6.8 Gy	-	13.6 Gy	2.0

Table 2 RBE of carbon ion beam (40 keV/ μ m)

	Carbon Beam (40keV/ μ m)	γ -ray	RBE
Apoptotic Sensitive Cells			
50% survival	0.84 Gy	1.42 Gy	1.7
Mitotic Delay Time			
120 min.	0.92 Gy	1.59 Gy	1.7

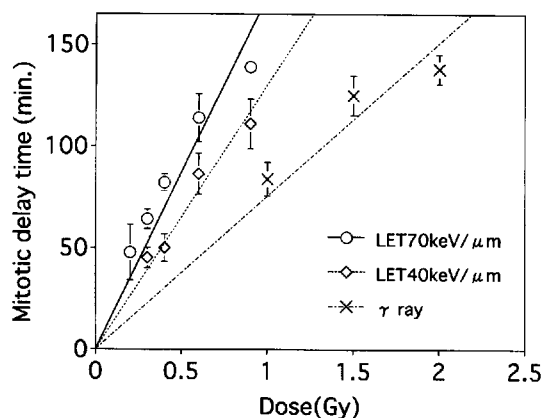


Fig. 2 Mitotic delay time plotted against irradiated dose.

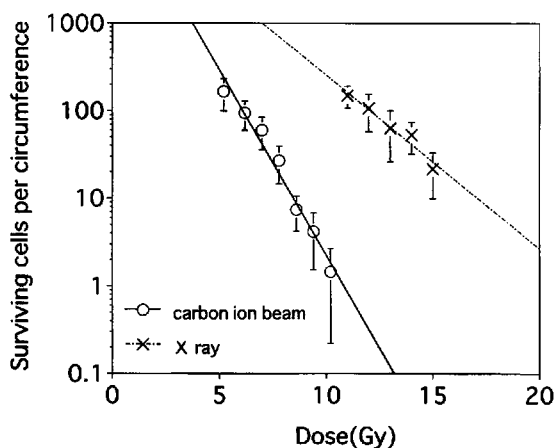


Fig. 3 Surviving cells per circumference plotted against irradiated dose.

アポトーシス高感受性細胞群の生存率から炭素線のRBEを求めた。また、ビンクリスチン存在下にて、細胞周期の進行がM期で停止することにより小腸腺窩には分裂細胞が蓄積する。少なくとも投与後3時間までは、直線的に分裂細胞が増加蓄積する^{5), 15)}こととアポトーシスの増加がないことが知られている¹⁵⁾。われわれのデータでもビンクリスチンによってアポトーシスは増えなかったもので、アポトーシスにあたえる影響はないと考えられた。

アポトーシスではLET 40と70 keV/ μ mでは差がなかった。アポトーシスは直接のDNA障害を示す可能性があること、また、アポトーシス高感受性細胞群では放射線に対する感受性が非常に高いのであまり差がなかったことが予想される。

一方、分裂遅延時間ではLETの大きさにRBEは依存した。コロニー法では分裂遅延時間と同様のRBEを示した。分裂遅延時間とコロニー法では亜致死障害からの回復ならびに増殖性細胞の障害をそれぞれ反映するが、これらのエンドポイントではRBEに差がなかった。それぞれのエンドポイントでLETごとの異なった反応を起こしている可能性が示唆された。

これまでの炭素線照射後のRBEの報告としては以下のようなものがある。Alpen等は炭素線(400MeV/u, 4 cm SOBP)のRBEを、マウス小腸腺窩への照射にてコロニー法を用い求めた。SOBPのplateau (LET 10~12 keV/ μ m), proximal peak (LET 55~65 keV/ μ m), distal peak (LET 85~160 keV/ μ m), で比較し求めた。D₀で比較したRBEはそれぞれ0.85, 1.00, 1.21であった。D_qを仮想した場合のRBEは、それぞれ1.3, 1.7, 1.5であった。また、10 %生存率で比較したRBEはそれぞれ1.1, 1.3, 1.4であった¹⁶⁾。我々のデータよりは小さい値であった。しかし、福津等は理化学研究所の装置を用い同じマウス小腸腺窩のコロニー法で炭素線(135MeV/u, 3 cm SOBP)のRBEを求めた。D₀はAlpen等と同様、差は明らかでなかったが、10 %生存率ではproximal (LET 65 keV/ μ m), mid (LET 78 keV/ μ m), distal peak (LET 108 keV/ μ m)でそれぞれ2.3, 2.5, 3.2となった^{17), 18)}。これらは本実験のRBEに近似した値であった。D₀は日内変

動の影響を受けやすい¹⁹⁾ので異なった実験結果が得られる可能性がある。特に放医研では深夜に及ぶことと飼育室における明暗の日内変動がきちんとしていないので条件としては厳しいと考える。

腫瘍のRBEを求める実験は以下の通り報告されている。阿部等はマウス下肢に移植した線維肉腫を用いて、炭素線(6 cm SOBP, LET 70 keV/ μ m)のRBEを求めた。腫瘍成長曲線の照射による成長遅延を比較検討した結果、RBEは1.5~1.8であった²⁰⁾。柯等は13種類のヒト培養腫瘍細胞への照射にて、炭素線(135MeV/u)のRBEを求めた。LET 20 keV/ μ mでのRBEは1.5~2.2, LET 40 keV/ μ mでのRBEは1.8~2.2, LET 80 keV/ μ mでのRBEは2.3~3.5となった²¹⁾。Kubota等はヒト由来Osteosarcoma Cellsへの照射にて、炭素線(135MeV/u, 4 cm SOBP)のRBEを求めた。SOBPのplateau, proximal peak, mid peak, distal peak, で照射し、RBEはそれぞれ1.6~1.7, 1.9~2.5, 2.1~2.6, 2.5~3.5であった²²⁾。Rodriguez等はrat brain gliosarcomaのspheroidと培養細胞を用い炭素線(400MeV/u, 4 cm SOBP)のRBEを求めた。SOBPのplateau (10 keV/ μ m), proximal peak (60 keV/ μ m), mid peak (80 keV/ μ m), distal peak (100 keV/ μ m)におけるRBEはそれぞれ、0.9~1.0, 1.5~3.0, 1.9~3.4, 1.5~3.7であった²³⁾。

正常組織のRBEは以下の通り報告されている。マウス血液幹細胞(CFU-S)における炭素線(400MeV/u, 4 cm SOBP)のRBEは、1.7~2.5であった²⁴⁾。Chinese hamster及びヒト由来kidney cellsにおいて、炭素線(400MeV/u, 10 cm SOBP)のRBEは、SOBPの中間付近と終わり付近で照射し、それぞれ1.04~1.20, 1.36~2.05であった²⁵⁾。Jose等はマウスの白内障の発生の程度から炭素線のRBEを評価した。炭素線とX線との照射にて白内障の発生の程度には差は見られずRBEは約1であった²⁶⁾。

これらの報告では、照射した組織または細胞群の違いによりRBEのばらつきが見られるものの、ほぼLETの増加に伴いRBEの増加が見られた。RBEの値は選択するエンドポイントにより変わりをうことをしめしている。

結 語

マウスの小腸腺窩の分裂遅延時間による炭素線 (LET 70 keV/ μ m) のRBEは2.3であり, 炭素線 (LET 40 keV/ μ m) のRBEは1.7であった. コロニー法における炭素線 (LET 70 keV/ μ m) のRBEは2.1であった. アポトーシス高感受性細胞群の生存率をエンドポイントとした場合LET 40 keV/ μ mと70 keV/ μ mによる差はなかったが, γ 線とのRBEは1.7であった. 従来の報告と同様にエンドポイントによりRBEが変わりうる可能性が示された. 謝辞: 本研究は放医研重粒子線がん治療装置の共同利用の一環として行われたもので, 関係者のご支援に深謝する. なお, 本研究は筆頭著者の学位論文の一部であることを付記する.

文 献

- 1) Abe, Y., Matuzawa, T., Fukuda, H.: Depletion of extremely radiosensitive subpopulation in crypt cells by 2-deoxy-D-glucose., Sugahara, T., Sagan, L.A., Aoyama, T. (eds.): Low dose irradiation and biological defense mechanisms. Elsevier Science Publishers B.V. 1992, pp183-186.
- 2) Abe, Y., Takahashi, J., and Fukuda, H.: G2 arrest following fractionated irradiation in the mouse jejunal crypt. *Int. J. Radiat. Biol.* **69**: 751-761, 1996.
- 3) Tsubouchi, S. and Matsuzawa, T.: Rapid radiation cell death and cell proliferation in intestinal epithelium after 1000-rad irradiation. *Radiat. Res.* **5**: 451-458, 1974.
- 4) Ijiri, K. and Potten, C.S.: The circadian rhythm for the number and sensitivity of radiation-induced apoptosis in the crypts of mouse small intestine. *Int. J. Radiat. Biol.* **58**: 165-175, 1990.
- 5) Chawalinski, S. and Potten, C.S.: Radiation-induced mitotic delay: duration, dose and cell position dependence in the crypts of the small intestine in the mouse. *Int. J. Radiat. Biol.* **49**: 809-819, 1986.
- 6) Leshner, S.: Compensatory reactions in intestinal crypt cells after 300 roentgens of cobalt-60 gamma irradiation. *Radiat. Res.* **32**: 510-519, 1967.
- 7) Leshner, J. and Leshner, S.: Effects of single-dose, whole-body, ^{60}Co gamma irradiation on number of cells in DNA synthesis and mitosis in the mouse duodenal epithelium. *Radiat. Res.* **43**: 429-438, 1970.
- 8) Nagasawa, H., Keng, P., Harley, R., et al.: Relationship between gamma-ray-induced G2/M delay and cellular radiosensitivity. *Int. J. Radiat. Biol.* **66**: 373-379, 1994.
- 9) William, C. D., Clifton, C.L., and Raymond, E.M.: Radiation-induced apoptosis: relevance to radiotherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **33**: 781-796, 1995.
- 10) Hall E.J.: 放射線科医のための放射線生物学, 第4版, 篠原出版, 1995.
- 11) Withers, H.R., and Elkind, M.M.: Microcolony survival assay for cells of mouse intestinal mucosa exposed to radiation. *Int. J. Radiat. Biol.* **17**: 261-267, 1970.
- 12) Tsubouchi, S., and Matsuzawa, T.: Recovery of function and cell population in intestinal epithelium of X-irradiated mice. *Radiat. Res.* **56**: 343-353, 1973.
- 13) Withers, H.R., and Elkind, M.M.: Radiosensitivity and fractionation response of crypt cells of mouse jejunum. *Radiat. Res.* **38**: 598-613, 1969.
- 14) Potten, C.S.: Extreme sensitivity of some intestinal crypt cells to X and γ irradiation. *Nature.* **269**: 518-521, 1977.
- 15) Harmon, B.V., Takano, Y.S., Winterford, C.M. et al.: Cell death induced by vincristin in the intestinal crypts of mice and in a human Burkitt's lymphoma cell line. *Cell Proliferation.* **25**: 523-536, 1992.
- 16) Alpen, E.L., Powers-Risus, P. and McDonald, M.: Survival of intestinal crypt cells after exposure to high Z, high-energy charged particles. *Radiat. Res.* **83**: 677-687, 1980.
- 17) Fukutsu, K., Kanai, Y., Furusawa, T. et al.: Response of mouse intestine after fractionated doses of accelerated carbon-ion with spread-out bragg peak, Ando, K. and Kanai, T. (eds.): Proceedings of the Third Workshop on Physical and Biological Research with Heavy Ions: National Institute of Radiological Sciences. 1993, pp 71-73.
- 18) Ando, K., Koike, S., Iizuka, M., et al.: Effects of high LET radiation on murine skin and tumors, Ando, K. and Kanai, T. (eds.): Proceedings of the Third Workshop on Physical and Biological Research with Heavy Ions: National Institute of Radiological Sciences. 1993, pp 61-63.
- 19) Hendry, J.H.: Diurnal variations in radiosensitivity of mouse intestine. *Br. J. Radiol.* **48**: 312-314, 1975.
- 20) 阿部由直, 立崎英夫, 占澤佳也, 他: 重粒子線照射による腫瘍再増殖動態の解析, 平成6年度放医研実験報告, 放射線医学総合研究所, 1994, pp 29-30.
- 21) 柯偉傑, 伊東久夫, 茂松直之, 他: 炭素粒子線のヒト培養細胞に対する細胞致死効果, 日本医放会誌 **56**: 669-673, 1996.
- 22) Kubota, N., Suzuki, M., Furusawa, Y., et al.: Comparison of biological effects of modulated carbon ions and fast neutrons in human osteosarcoma cells. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **33**: 135-141, 1995.
- 23) Rodriguez, A. and Alpen, E.L.: Cell survival in spheroids irradiated with heavy-ion beams. *Radiat. Res.* **85**: 24-37, 1981.
- 24) Answorth, E.J., Kelly, L.S., Mahlmann, L.J., et al.: Response of colony-forming units-spleen to heavy charged particles. *Radiat. Res.* **96**: 180-197, 1983.
- 25) Chapman, E.A., Blakery, E.A., Smith, K.C., et al.: Radiation biophysical studies with mammalian cells and a modulated carbon ion beam. *Radiat. Res.* **74**: 101-111, 1978.
- 26) Jose, J.G. and Answorth, E.J.: Cataract production in mice by heavy charged argon, neon, and carbon particles. *Radiat. Res.* **94**: 513-528, 1983.

要旨：放射線医学総合研究所の重粒子線照射装置の炭素線ビームを用いて、小腸腺窩における生物学的効果比（RBE）を求めた。エンドポイントとしてアポトーシス高感受性細胞群の生存率、分裂遅延時間とコロニー法を用いた。【材料と方法】炭素線ビーム（290 MeV/u: SOBP 6 cm）を雌C3Hマウスに全身照射した。（実験1）アポトーシス高感受性細胞群の生存率と分裂遅延時間をエンドポイントとした。LET 70 keV/ μ mとLET 40 keV/ μ mにて照射した。照射15分後に硫酸ビンクリスチン（0.8 mg/kg）をマウスの腹腔内に投与し、2時間45分後に屠殺した。対照群はビンクリスチン投与2時間45分後に屠殺した。屠殺後に小腸を摘出固定し、組織切片にヘマトキシリン・エオジン染色（H・E染色）をした。塩基好性核凝集濃縮像をアポトーシスとした。小腸腺窩のアポトーシスと分裂像を数え、アポトーシス高感受性な細胞の生存率と分裂遅延時間を計算し、RBEを求めた。（実験2）腺窩細胞の生残率（コロニー法）をエンドポイントとした。LET 70 keV/ μ mで照射した。照射3.5日で屠殺し、小腸を摘出固定し、組織切片にH・E染色をした。肥大した増殖腺窩を数え、生存細胞数に変換しRBEを求めた。【結果】炭素線と光子線照射群で、照射線量の増加に伴いアポトーシスの増加と分裂像の減少が観察された。アポトーシス高感受性細胞群の生存率はLET 70と40 keV/ μ mで差はなかった。炭素線のRBEは1.7であった。分裂遅延時間で比較したLET 70と40 keV/ μ mにおける炭素線のRBEはそれぞれ2.3と1.7であった。小腸腺窩のコロニー法で比較した炭素線（LET 70 keV/ μ m）のRBEは2.0-2.1であった。【考察と結論】異なったエンドポイントを用いることにより、それぞれの感受性を反映したRBEが得られる可能性が示唆された。小腸腺窩細胞は放射線に極めて高い感受性を持っているので、アポトーシスではLETごとの感受性に差が生じなかった可能性がある。分裂遅延時間とコロニー法では同じRBEが得られており、LETによる感受性が同じであることが示唆された。