

日本財団補助金による

1996年度財団法人日中医学協会助成報告書

—調査並びに研究に対する助成—

年 月 日

財団法人 日中医学協会

理事長 中島章 殿

研究代表者氏名 青山 喬

所属機関名 滋賀医科大学

職 名 滋賀医科大学 名誉教授 年齢 66 才

所 在 地 〒520-21 大津市瀬田月輪町

電話 0775(48)2111 内線 \_\_\_\_\_

1. 研究課題

中国医療放射線作業従事者の受けた職業被曝線量の染色体異常測定(FISH法)による検証  
 研究計画では、DNAプローブを4番染色体のみとし総計100名の安定型染色体異常測定  
 を予定したが、検討の結果、染色体異常を初率よく検出するためにDNAプローブを  
 4番と7番染色体の2種類にした。そのために検査個体数は、医療放射線  
 作業従事者19名と対照8名に減少した。さらに、末梢血をin vitroでX線照射  
 (0.4Gyと1Gy)を行い、同様に染色体異常を調べた。この結果を利用して19名の  
 医療放射線作業従事者の線量推定を行い、線量効果関係を明らかにする。  
 現在、実験はすべて終了しており、最終的な取りまとめと解析を行っている。

2. 研究期間 自 1996年 月 日 ~ 至 1997年 3月 15日

3. 研究組織

日本側研究者氏名 法村 俊之 (51才)

所属機関 産業医科大学 職名 教授

中国側研究者氏名 王 継先 (59才)

所属機関 中国医学科学院放射医学研究所 職名 教授

4. 研究目的、方法、成果と考察、結論の形式で、A4版にて4,000字以上で報告し、研究成果の発表予定についても記載して下さい。尚、論文発表に当っては、日本財団補助金による旨を明記して下さい。

5. 収支決算報告

1996年4月11日交付通知のあった研究課題 中国産放射線作業従事者の放射線被曝量の定量評価法(FISH法)による検証  
 についての収支決算を行ないました。 関係書類を添えて、次のとおり報告します。

交付を受けた金額	支 出 内 訳				
	消耗品費	謝 金	旅 費	その他	合 計
974,000 円	84,500 円	0 円	129,000 円	0 円	974,000 円

支出費内訳 (消耗品、謝金、旅費、その他の項目別に記載・別紙可)

区 分	金 額	使 用 目 的
(This section is crossed out with a large X)		

## Projects: Report on FISH Study

### 1. Rapid-translocation frequency analysis in medical diagnostic x-ray workers and dose estimation.

Epidemiological investigation revealed the incidence and mortality of leukemias, cancers of skin and female breast increased significantly among medical diagnostic x-ray workers. It is very important to estimate the level of radiation exposure for evaluating the cancer risk of the x-ray workers. However, the accumulative doses received by x-ray worker are unknown before 1985. For estimating dose of x-ray workers by biodosimetry, the most promising assay is frequency of translocation in human blood lymphocytes by using chromosome painting.

19 medical diagnostic x-ray workers and 8 controls were selected from cohort and their peripheral blood were sampled for chromosome painting by FISH. Prepare metaphase chromosome spread on slide according to standard cytogenetic procedures currently in use in our laboratory. Whole chromosome probes 4,7 and Kits were purchased from Oncor Inc. with minor modification. PAINT<sup>[1]</sup> has been used to identify aberrations.

The results showed that the frequency of translocation among x-ray workers were significantly higher than control values. (table 1.). Estimated doses from both biological and physical methods for x-ray workers were listed in tables 2 and Figure 1. According to the equation recommended by Straume<sup>[2]</sup>:  $H = [(Y-K)/\alpha]Q$ , H-dose(Gy). Y-translocation/cell measured in blood lymphocytes of x-ray workers. K-background frequency of translocations.  $\alpha$ -linear coefficient of translocation obtained from linear-quadratic dose-response relationship in vitro. Q-radiation quality factor.  $\alpha$  value from Lucas<sup>[3]</sup> and Fernandez<sup>[4]</sup> are 0.025(for  $\gamma$ -rays) and 0.028(for x-rays) translocation/cell-Gy. So, with the equation  $H = [(Y-K)/\alpha]Q$  and  $\alpha$ , K and Q values, biological doses were calculated. In general, the doses estimated are in good agreement for most samples, except for a few samples. Intercomparisons of translocation frequency measured by FISH and G-banding for x-ray workers were listed in table 3.

### References

1. J.D. Tucker et al. Cytogenet Cell Genet 68:211 ~ 221, 1995
2. T. Straume et al. Health Phys 62(2):122 ~ 130, 1992
3. J.N. Lucas et al. Health Phys 68(6):761 ~ 765, 1995
4. J.L. Fernandez et al. Int J Radiat Biol 67(3):295 ~ 302, 1995

### 2. X-ray-induced translocations analysed by FISH with whole chromosome probes 4 and 7 in vitro.

Peripheral blood was obtained from two healthy males (one aged 24 years, another aged 31 years) and irradiated with 180KV x-rays, (15mA, 1.0mm Cu filter) dose rate 0.40Gy/min for a total dose of 0.4 and 1.0Gy. A 0.5ml aliquot of x-ray irradiated whole blood was added to 5.0ml of RPMI 1640 medium supplemented with 10% fetal serum and moderate PHA, colcemid (final concentration 0.004 $\mu$ g/ml) was add before cultures.

Cells were cultured for 50h at 37 °C in 5% CO<sub>2</sub> in air.

FISH procedures was performed as described first part. PAINT was applied to identify aberrations.

References

1. M.Bauchinger et al, Int J Radiat Biol 64(2): 179~184, 1993
2. J.N.Lucas et al, Health Phys 68(6):761 - 765,1995
3. J.L.Pernandez et al, Int J Radiat Biol 67(3): 295~302, 1995

Table 1: Chromose rearrangements in medical diagnostic x-ray workers and controls by FISH for chromosomes probes 4 and 7

Subjects	Calendar year of entry	Cells <sup>a</sup>	No. of aberrations			
			t	dic	ins	acc
C-01	1984	94 ( 427)	1	1		3
C-02	1963	484(2202)	3			1
C-03	1968	187 ( 850)	0			
C-04	1965	1011(4594)	5	1		7
C-05	1970	372(1689)	3			1
C-06	1956	114 ( 517)	1			
C-07	1964	813(3695)	2			
C-08	1966	397(1803)	4	1		3
X-01	1963	249(1130)	2			
X-02	1960	248(1125)	2			
X-03	1966	171 ( 778)	2			2
X-04	1953	269(1223)	4			1
X-05	1957	464(2108)	4			
X-06	1970	508(2311)	9			2
X-07	1956	159 ( 722)	1			2
X-08	1970	229(1039)	4			1
X-09	1971	227(1033)	5			1
X-10	1970	337(1530)	7		1	2
X-11	1960	538(2446)	6	1		3
X-12	1969	577(2622)	14	1		2
X-13	1962	314(1427)	9		2	3
X-14	1958	310(1410)	8			1
X-15	1958	178 ( 809)	1			
X-16	1969	646(2936)	12			1
X-17	1970	200 ( 910)	3			1
X-18	1958	236(1072)	9	1		1
X-19	1961	418(1899)	6	3		4

a: Genomic-equivalents, cells scored in parentheses, t-translocation, dic-dicentrica, ins-insertion, ins-insertion, ace-acentric aberrations.

Table 2: Dose estimated by FISH and physical model  
for medical diagnostic x-ray workers

Subjects	Calendar year of entry	Translocations /cell	Biological dose(cGy)		physical dose(cGy)
			Lucas <sup>[2]</sup>	Fernandez <sup>[4]</sup>	
X-01	1963	0.008	12	10.714	9.679
X-02	1960	0.008	12	10.714	20.402
X-03	1966	0.012	28	25.000	26.844
X-04	1953	0.015	40	35.714	63.634
X-05	1957	0.009	16	14.268	24.972
X-06	1970	0.018	52	46.429	31.609
X-07	1956	0.006	4	3.571	0.092
X-08	1970	0.017	48	42.857	7.689
X-09	1971	0.022	68	60.714	24.851
X-10	1970	0.021	64	57.143	24.861
X-11	1960	0.011	24	21.429	35.988
X-12	1969	0.024	76	67.857	11.120
X-13	1962	0.029	96	85.714	19.131
X-14	1958	0.026	84	75.000	43.335
X-15	1958	0.006	4	3.571	21.128
X-16	1969	0.019	56	50.000	21.317
X-17	1970	0.015	40	35.714	14.254
X-18	1958	0.038	132	117.857	131.094
X-19	1961	0.014	36	32.143	140.940

Table 3: Comparison of translocation frequencies  
in medical diagnostic x-ray workers measured by FISH and by G-banding

Subjects	FISH			G-banding		
	Genomic- equivalents	Translocations	Trans/G-c <sup>2</sup>	Cells	Translocations	Trans/cell
X-01	249	2	0.008	100	0	0.000
X-02	248	2	0.008	100	0	0.000
X-03	171	2	0.012	100	1	0.010
X-04	269	4	0.015	100	0	0.000
X-05	464	4	0.009	100	1	0.010

Table 4: Translocations induced by in vitro exposure to  $\gamma$ -rays

Dose(Gy)	Cells	Genomic-equivalents	Translocation	Translocation/cell/genomic	
				Mean	SE
0.4	10093	2220	41	0.0185	0.0029
1.0	1602	352	22	0.0625	0.0133

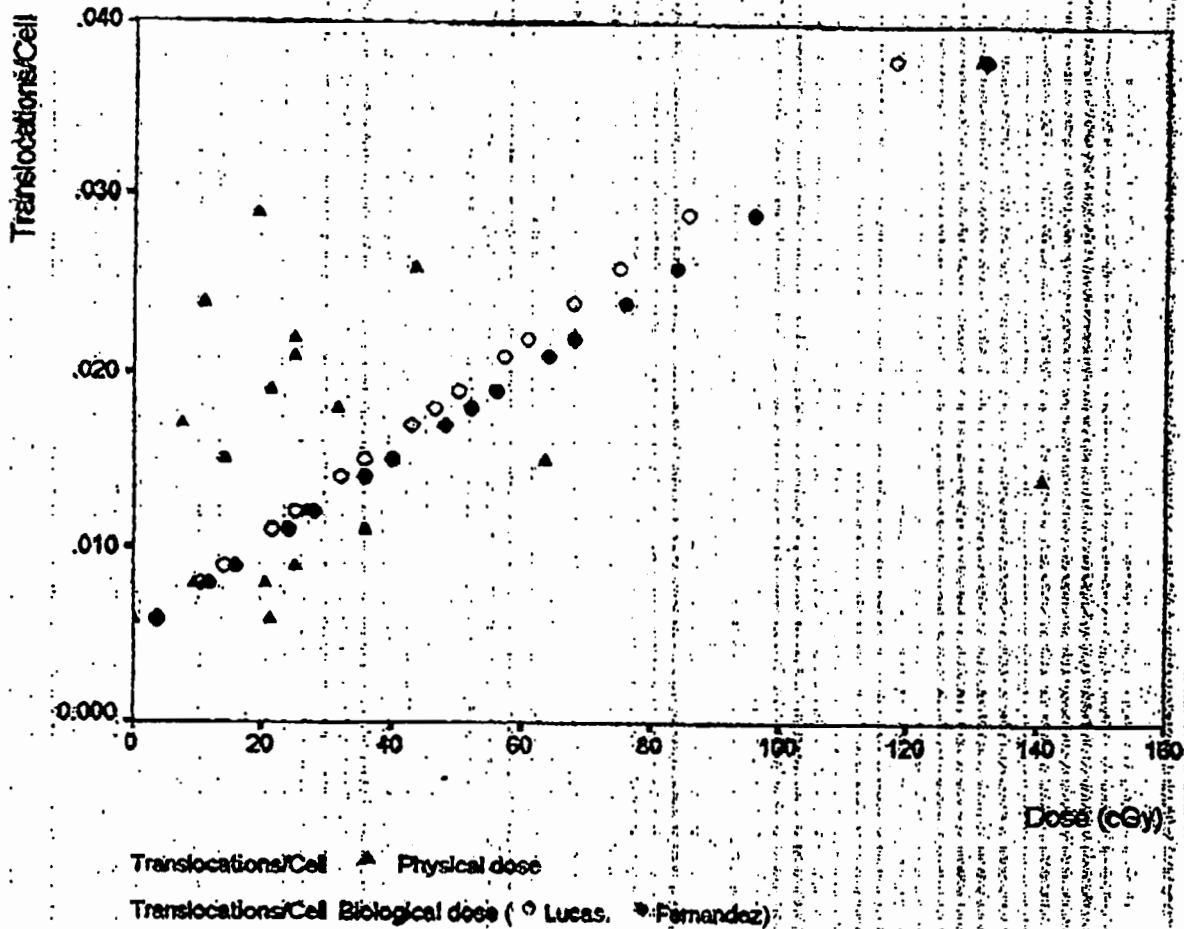


Fig 1: Comparison the results from the two biological Models with physical model

51

### FAX 送信票

1997 年 3 月 26 日 時 分	
宛先:	日中医学協会 川口棟
FAX 番号	03-3291-9164
件名:	中国医療放射線作業従事者の染色体異常測定 (FISH法) 報告書
発信者:	青山喬
FAX 番号	0775-79-2731 Fax モードで送信して下さい
枚数 (本票を含む) 6	

貴協会の助成を以ておこなった「中国医療放射線作業従事者の染色体異常測定の染色体異常測定 (FISH法) に係る検証」は無事終了し、本日 Fax にて報告書を送付いたしました。

最初計画した標本数の少くはなりましたが、学術的十分評価での結果を得たと考えっております。

本報告書の論文として完成したものであります。3月20日に送付した報告書の参考資料としてお送りいたします。今後、国際学会で発表し、国際的学術誌にて投稿する予定であります。

とり成す。報告と御礼です。有難うございました。