

碳离子辐照细胞的相对生物学效率*

李文建 周光明 卫增泉 王菊芳 党秉荣 李强 颜红梅

(中国科学院近代物理研究所 兰州 730000)

摘要 研究了传能线密度 (LET) $\geq 125.5 \text{ keV}/\mu\text{m}$ 的碳离子辐照小鼠黑色素瘤 B16、人的宫颈癌 HeLa、中国仓鼠肺 V79、人的肝癌 SMMC-7721 4 种细胞的相对生物学效率 (RBE)。得到了当 $LET = 125.5 \text{ keV}/\mu\text{m}$ 时, RBE 依赖于细胞种类并随细胞存活水平的升高而增加的关系, 以及当 $LET \geq 125.5 \text{ keV}/\mu\text{m}$ 时, RBE 随着 LET 的增大而变小的关系。

关键词 碳离子 传能线密度 细胞存活 相对生物学效率

1 引言

电离辐射能量在生物体内的沉积过程会造成一些关键生物大分子结构被破坏, 经过一系列物理、化学和生物过程, 其最终结果表现为某些正常生物功能被破坏或改变, 称为辐射损伤。辐射损伤的程度不仅取决于个体辐射敏感性, 还应包括其他许多因素的作用, 其中, 射线的性质对生物效应有明显的影响, 不同类型的辐射产生的生物效应有明显差别。不同射线的每一个单位剂量的致伤能力一般也不同。据现有认识, 这主要取决于粒子径迹上能量沉积的微观分布, 换句话说, 射线的致伤能力与其传能线密度 (Linear Energy Transfer, LET) 有密切关系^[1], 但也必须指出, LET 并不能说明全部问题。

为了比较不同辐射的致伤能力, 在放射生物学中通常用“相对生物学效率” (RBE) 这个概念来表示。 RBE 通常以低 LET 的 X 射线 (约 200—250kV) 或 γ 射线 (^{60}Co) 作为基准辐射^[2]。一般可用下面方式表示

$$RBE = \frac{\text{基准辐射产生生物效应的剂量}}{\text{所试辐射产生相同生物效应的剂量}}$$

多年来的研究表明, RBE 受多种因素的影响, 例如, 辐射品质、辐射剂量、分次照射的次数、剂量率、照射时有氧与否、所选的生物学终点效应以及该生物效应的定量水平等^[3,4]。然而, 另有报道^[4], 稀疏电离辐射 (如 X 或 γ 射线) 与致密电离辐射 (如 α 粒子) 的 RBE 对上述某些因素的依赖性存在差异, 如前者的 RBE 对剂量率有依赖关系, 而后者的 RBE 则对剂量率的依赖性小。所以, 重离子作为更致密的电离辐射, 对其 RBE 与上述哪

2001-07-24 收稿

* 中国科学院西部之光 (XB980604) 和院长特别支持基金 (TB990601) 资助

些因素相关,而且与诸因素的相关性遵循怎样的规律等问题的研究无疑对指导当今的重离子束治癌具有重要意义.本文仅就碳离子(肿瘤治疗的最佳离子)的 *RBE* 与细胞种类、细胞存活水平以及 *LET* 的关系进行了研究.

2 材料与方法

2.1 细胞及准备

细胞为小鼠黑色素瘤(B16)、人宫颈癌(HeLa)、中国仓鼠肺(V79)和人肝癌(SMMC-7721).前3种细胞由中国医学科学院肿瘤研究所提供,后1种由上海第二军医大学提供.辐照前细胞用含10%小牛血清的RMPI-1640培养基(Gibco产品)于培养瓶中在37℃,5%CO₂培养箱中培养,每2—3天传一代.对于碳离子实验,辐照前一天,将细胞接种于培养皿中培养,细胞浓度为 5×10^5 /ml,临照射前吸出培养基,用经灭菌的4μm厚Mylar膜封口,将其安装在辐照终端样品盘上.对于基准辐射(⁶⁰Co)实验,细胞用20ml培养瓶培养,培养液为1.5ml,细胞浓度为 5×10^4 /ml,直接用于辐照.

2.2 辐照

碳离子由兰州重离子加速器(HIRFL)提供,初始能量为50MeV/u,电荷态为6+,在靶室窗外的束流路径上插入不同厚度的有机玻璃(PMMA, $\rho = 1.19\text{g/cm}^3$)降能片,将束流能量分别降至14.54,8.18,0.86MeV/u.这些能量的碳离子对应的*LET*在水中分别为125.5,200,700keV/μm.每种存活曲线的剂量为0,0.5,1,1.5,2,3,4,5,6,8Gy,碳离子和⁶⁰Co源(兰州医学院第一附属医院放疗科提供)的剂量率分别为3Gy/min和0.7Gy/min.

2.3 辐照后的处理

辐照后,细胞用胰酶消化,取少量样品计数并稀释到适宜浓度,接种到培养皿内的培养液中,于37℃,CO₂含量为5%的培养箱中培养8—12天,取出样品并用PBS冲洗,用卡诺液固定,Giemsa染色,统计大于50个细胞形成的集落数,每个样品4皿重复.

3 实验结果和讨论

3.1 细胞存活率与剂量的关系曲线

用γ射线和125.5keV/μm¹²C离子对HeLa,B16,SMMC-7721和V79细胞进行了辐照.图1给出了存活率与辐照剂量的关系,图中 D_{10} (D_{50})是存活率为10%(50%)对应的辐照剂量.

3.2 相对生物学效率与细胞种类及存活水平的依赖关系

在上述实验中得到了细胞存活水平分别为10%和50%时不同种类细胞的相对生物

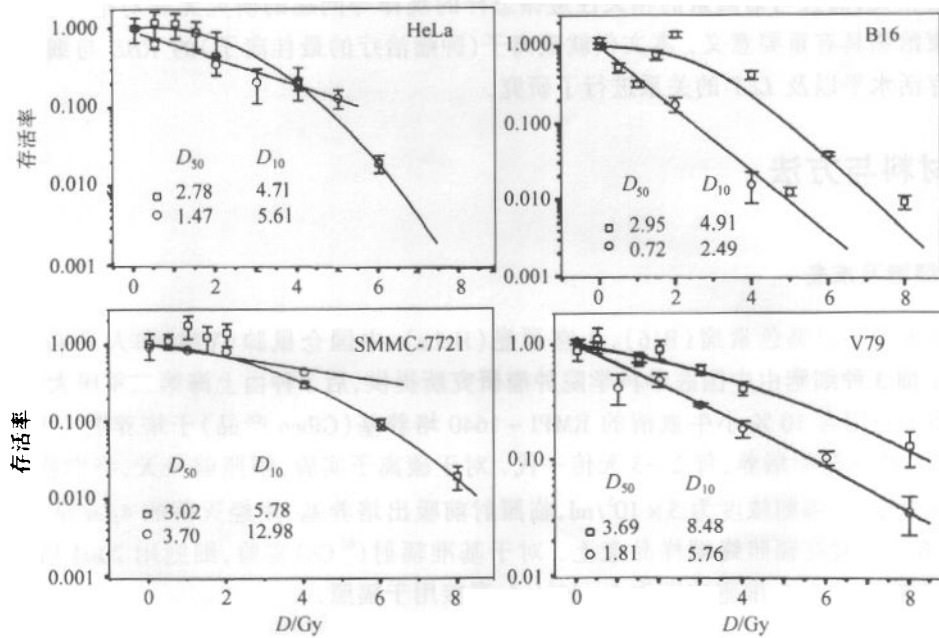


图 1 γ 射线和 $125.5\text{keV}/\mu\text{m}$ ^{12}C 离子辐照 4 种细胞的存活曲线

□ γ 射线, ○ $125.5\text{keV}/\mu\text{m}$ $^{12}\text{C}^{6+}$.

学效率(图 2). 从实验结果可知, 存活率为 10% 和 50% 的两种定量水平都显示出相对生物学效率随细胞靶材料的不同而改变, 换句话说, 相对生物学效率依赖于细胞种类.

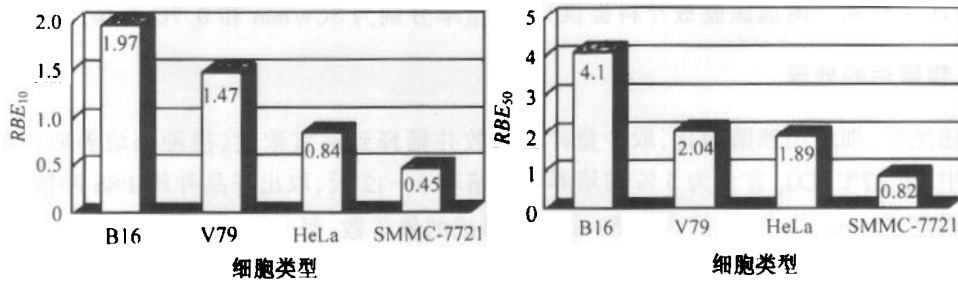


图 2 RBE_{10} 和 RBE_{50} 对细胞种类的依赖关系 (LET 为 $125.5\text{keV}/\mu\text{m}$)

图 3 是 4 种细胞的 RBE 对存活水平的依赖关系. 结果表明, 4 种细胞的 RBE 都随着存活水平的升高而增加, 这是因为碳离子辐射存活曲线呈现指数衰减而不像 γ 射线辐照时的存活曲线存在明显的修复肩区, (见图 1). 另外, 对于 B16 细胞及存活水平为 50% 的 HeLa 细胞, 其 RBE 均大于 1, 从而体现了重离子治癌对这种状态下的癌细胞具有优势. 对于正常细胞 V79, 它的 RBE 也大于 1, 表明重离子对正常组织比 γ 射线同样有较强的杀伤作用. 然而, 对于 HeLa 细胞在存活水平为 10% 时, RBE 小于 1. SMMC-7721 细胞的存活水平无论是 10% 还是 50% 时, 碳离子辐照的 RBE 都小于 1, 说明重离子辐照对这种癌细胞并没有优势. 因此, 重离子束治癌也应该考虑适应症的问题.

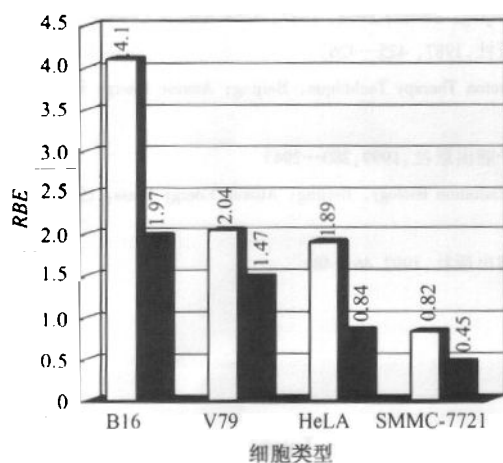


图3 4种细胞的 RBE 对存活水平的依赖关系
(LET 为 $125.5\text{keV}/\mu\text{m}$)
□ 50% , ■ 10% .

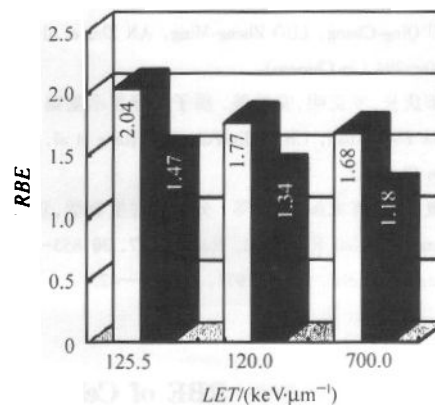


图4 V79细胞的 RBE 与 LET 的关系
□ 50% , ■ 10% .

3.3 相对生物学效率与传能线密度的关系

图4是V79细胞的 RBE 与 LET 的关系. 当 LET 从 $125.5\text{keV}/\mu\text{m}$ 变为 $200\text{keV}/\mu\text{m}$ 和 $700\text{keV}/\mu\text{m}$ 时, 10% 和 50% 存活率对应的 RBE 值均依次从大变小, 表明随着 LET 的增高有更多的射线能量并不能用于引起生物效应上. 按照靶学说的观点, 射线要杀死一个细胞必须给细胞的靶部位以足够能量. 稀疏电离辐射的带电粒子径迹上的电离事件被分散在相对较长的间距中, 靶体积发生多于一次的电离事件的几率不大. 随着 LET 的增加, 径迹上的电离密度加大. 细胞靶体积中发生的电离事件增多, 对细胞的杀伤作用也随之增大. 通常认为以每个细胞发生两次电离事件代表有最佳杀伤作用的 LET , 如果 LET 再高, 则出现“超杀”效应, 造成能量浪费, RBE 下降. 类似的实验结果国外已有报道^{5,6}, 这在肿瘤放射治疗条件的选择时具有重要意义.

从图4还可以看出, 在3个不同的 LET 情况下, RBE 均随细胞存活率的不同而有差别. 当存活率增高时, RBE 也增高. 其解释与图3中实验结果的相同.

4 结束语

通过实验研究, 证实当碳离子的 $LET = 125.5\text{keV}/\mu\text{m}$ 时, 其 RBE 的大小依赖于细胞种类, 同时也随着细胞存活水平的升高而增大. 结果还表明当重离子的 $LET \geq 125.5\text{keV}/\mu\text{m}$ 时, 其 RBE 随 LET 增大而变小.

参考文献 (References)

- 1 Kraft G, Taucher-Scholz G, Heilmann J. LET-effects in DNA, in: Fuciarelli A F, Zimbrick J D. Radiation Damage in DNA, Battelle Press, 1995, 203—214

- 2 ZHU Ren-Bao, LIU Yong, LUO Zu-Yu. Radiation Biology, Beijing: Science Press, 1987, 425—426(in Chinese)
(朱任葆,刘永,罗祖玉编著.辐射生物学,北京:科学出版社,1987,425—426)
- 3 YU Qing-Chang, LUO Zheng-Ming, AN Zhu et al. Base of Proton Therapy Technique. Beijing: Atomic Energy Press, 1999, 280—294 (in Chinese)
(郁庆长,罗正明,安竹等.质子治疗技术基础,北京:原子能出版社,1999,280—294)
- 4 XIA Shou-Xuan, CHEN Jia-Pei, WEI Kang et al. Molecular Radiation Biology, Beijing: Atomic Energy Press, 1992, 46—48
(in Chinese)
(夏寿萱,陈家佩,魏康等.分子放射生物学,北京:原子能出版社,1992,46—48)
- 5 Butts J J, Katz R. Radiat. Res., 1967, 30:855—871
- 6 Katz R. Radiat. Res., 1971, 47:402—425

RBE of Cells Irradiated by Carbon Ions*

LI Wen-Jian ZHOU Guang-Ming WEI Zeng-Quan WANG Ju-Fang
DANG Bing-Rong LI Qiang XIE Hong-Mei

(Institute of Modern Physics, The Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

Abstract The mouse melanoma cells (B16), human cervical squamous carcinoma cells (HeLa), Chinese hamster pulmonary cells V79, and human hepatoma cells (SMMC-7721) were collected for studying. The cells of 5×10^5 /ml were seeded in 35mm diameter petri dish and allowed to grow one day, and then the medium in petri dishes was removed away, the cells were washed once with phosphate-buffered saline (PBS), petri dishes was covered with $4\mu\text{m}$ thickness Mylar film. The cells were irradiated by ^{12}C ion beam with LETs of 125.5, 200, 700keV/ μm in water generated from HIRFL (Heavy Ion Research Facility in Lanzhou). For ^{60}Co γ -ray experiment, the cells of 5×10^4 /ml were grown in 20ml culture flasks including 1.5ml cell suspension and directly used for irradiation. Following irradiation, the cells were trypsinized, counted, plated at appropriate densities in growth medium and then seeded in 60mm diameter culture dishes. Each dish was filled 4ml standard medium, and incubated for 8-12 days at 37°C incubator containing 5% CO_2 . The cultures were then rinsed with PBS buffer at pH6.8, fixed with Carnoy's fluid, stained for 8min with Giemsa (1:20, pH6.8), and colonies containing more than 50 cells were scored. Their relative biological effectiveness (*RBE*) were investigated. The results show that *RBE* depends on cellular types and increases with increasing of cellular survival level when *LET* is at 125.5keV/ μm , and decreases with increasing *LET* when $LET \geq 125.5\text{keV}/\mu\text{m}$.

Key words carbon ion, linear energy transfer, cellular survival, relative biological effectiveness

Received 24 July 2001

* Supported by West Light Foundation (XB980604) and President Special Foundation (TB990601), The Chinese Academy of Sciences