

# 不同 LET 碳离子对 V79 细胞 辐射敏感性的影响

王菊芳 周光明 何 静 李文建 李 强 党秉荣  
李兴林 温小琼 颜红梅 卫增泉

(中国科学院近代物理研究所 兰州 730000)

高清祥

(兰州大学生物系 兰州 730000)

**摘要** 以中国仓鼠肺 V79 细胞为材料,利用兰州近代物理研究所重离子研究装置(HIRFL)产生的碳离子,研究了不同线性能量传递(LET)的重离子对体外培养细胞的存活效应,并与  $\gamma$  射线的结果作了比较。结果表明,不同 LET 碳离子引起细胞失活效应由大到小的顺序依次为 125、200、700 keV/ $\mu\text{m}$ 。碳离子表现为无肩区的存活曲线,属单靶单击模型, $\gamma$  射线表现为有肩区的存活曲线,属多靶单击模型。LET 值为 125、200、700 keV/ $\mu\text{m}$  时得到的失活截面分别为 35、12、8  $\mu\text{m}^2$ 。当细胞存活比率为 0.1 和 0.37,在 LET 为 125 keV/ $\mu\text{m}$  时得到相对生物学效应(RBE)值为 1.47 和 2.19。

**关键词** 线性能量传递,碳离子,V79 细胞,存活效应,失活截面,相对生物学效应

**中图分类号** Q691, R730

电离辐射对体外细胞的存活效应是放射生物学研究中的一个重要方面。本研究利用兰州近代物理研究所重离子研究装置(HIRFL)产生的碳离子,研究了不同线性能量传递(LET)碳离子对体外培养的中国仓鼠肺 V79 细胞的存活比率,并与  $\gamma$  射线的结果进行了比较,为进一步开展体内实验和临床应用提供了必要的基础资料。

## 1 材 料 和 方 法

### 1.1 细胞及其培养

实验所用细胞为中国仓鼠肺 V79 细胞,购自中国医学科学院肿瘤研究所,培养基为含 10% 小牛血清的 RPMI-1640(GIBCO)培养液,每 2-3d 传代一次,置 5%  $\text{CO}_2$  于培养箱中 37 $^\circ\text{C}$  培养。 $\gamma$  射线辐照直接照射培养瓶;碳离子辐照前一天将细胞密度按  $5 \times 10^4$  个/mL 接种到  $\phi 35\text{mm}$  的玻璃培养皿中。

### 1.2 辐照

重离子辐照于兰州近代物理研究所重离子研究装置(HIRFL)辐照终端 TL2 上进行,离子种类为  $^{12}\text{C}^{6+}$  离子束,能量 50 MeV/u,剂量从 0.58 Gy,根据需要在束流通路中加入不同的有机玻璃(PMMA)将 LET 值调定为 125 keV/ $\mu\text{m}$ 、200 keV/ $\mu\text{m}$  和 700 keV/ $\mu\text{m}$ 。照射前倒掉培养皿中的培养液,用 PBS 缓冲液洗涤一次,并留少量缓冲液以防细胞干死,然后盖上灭菌的 3  $\mu\text{m}$

中国科学院“西部之光”(XB980604)资助

第一作者:王菊芳,女,1967 年 10 月出生,1990 年毕业于兰州大学,助理研究员,辐射生物学专业

收稿日期:初稿 2000-03-10, 修回 2000-06-28

Mylar 膜制成的培养皿盖进行照射。样品上的离子注量用束流积分仪测得。样品的离子注量 ( $\varphi$ ) 和吸收剂量 ( $D$ ) 按下列公式换算

$$D \text{ (Gy)} = 1.6 \times 10^{-9} \text{ LET (keV/}\mu\text{m)} \varphi \text{ (ions/cm}^2\text{)} \tag{1}$$

$\gamma$  射线辐照于兰州医学院第一附属医院放射科的  $^{60}\text{Co}$  源上进行, 剂量率为  $0.47 \text{ Gy/min}$ 。未经射线照射的细胞为对照组。

### 1.3 辐照后细胞处理

辐照结束后, 将细胞用胰酶消化下来, 取少量样品计数, 稀释到适宜浓度, 接种到  $\phi 60\text{mm}$  培养皿中, 培养 8d 后, 卡诺液固定, Giemsa 染色, 统计多于 50 个细胞的集落数, 每个样品 4 皿重复。细胞接种效率 (colony formation efficiency, CFE) 按下列公式计算

$$\text{CFE (\%)} = (N_x / N) \times 100\% \tag{2}$$

式中,  $N_x$  代表集落数,  $N$  代表接种细胞数。细胞存活比率 (survival fraction, SF) 按下列公式计算

$$\text{SF (\%)} = (S_x / S_0) \times 100\% \tag{3}$$

式中,  $S$  代表受照细胞接种效率,  $S_0$  代表对照细胞接种效率。

## 2 结果 和 讨论

### 2.1 细胞存活曲线及其拟和方程

图 1 表示 4 种不同 LET 电离辐射作用于 V79 细胞后存活比率与剂量的效应关系。引起

细胞失活效应由小到大的顺序依此为 125、200、700 keV/ $\mu\text{m}$  碳离子和  $\gamma$  射线。早年国外学者就发现电离辐射引起哺乳动物细胞失活的效应首先随着 LET 值的增加而增大, 在 100keV/ $\mu\text{m}$  左右达到最大值; 如果 LET 值进一步增大, 失活效应反而降低<sup>[1,2]</sup>, 这主要是因为电离事件的饱和机制。按靶学说的观点, 射线要杀死一细胞, 必须给靶部位以足够的能量, 稀疏电离辐射的带电离子径迹上的电离事件被分散在较长的间距中, 靶部位发生多于一次的电离事件几率不大, 随着 LET 的增加, 径迹上的电离密度增大, 靶部位发生的电离事件增多, 对细胞的杀伤作用也随之增大<sup>[3]</sup>。当 LET 高到一定程度时, 致死损伤已经产生, 多余的电离事件并不能对杀死细胞作出贡献, 从而产生超杀效应 (overkill effect), 造成能量的浪费, 如果 LET 再高, 离子径迹间的几何空间变小, 反而不利于电离事件的产生, 使失活效应降低<sup>[4]</sup>。

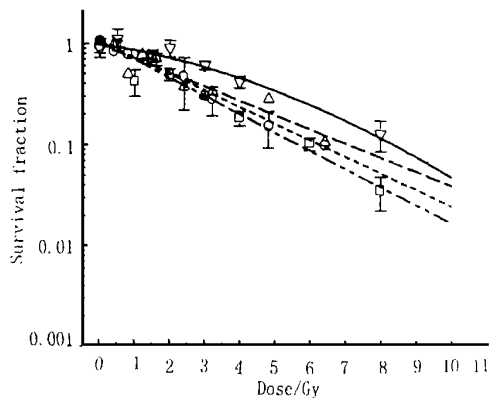


Fig. 1 Survival curves of V79 cells irradiated with ionizing radiations with different LET.

□ 125.5keV/ $\mu\text{m}$ , ○ 200keV/ $\mu\text{m}$ ,  
△ 700keV/ $\mu\text{m}$ , ▽  $\gamma$  ray

在半对数坐标轴上, 重离子的存活曲线表现为直线, 存活比率与剂量的关系适合方程  $S = N \exp(-D/D_0)$ ,  $\gamma$  射线的存活曲线则有一个较平缓的肩区, 存活比率与剂量的关系适合方程  $S = 1 - (1 - \exp(-D/D_0))^N$ , 这里的  $N$  为外推数, 也就是细胞内靶的数量;  $D$  为直线范围内使存活下降 63% 所需的剂量, 可反映细胞的平均致死剂量。将曲线的直线部分外推,

使之与存活分数轴相交, 100%存活条件下对应的剂量  $D$  代表细胞积累亚致死损伤的能力, 还可以反映细胞修复亚致死损伤的能力,  $D_{37} = D_0 + D_q$  [3] 由存活曲线可分别求得不同 LET 碳离子和  $\gamma$  射线的  $D_0$ 、 $D_q$ 、 $D_{37}$  和  $N$  值, 结果如表 1 所示。从表 1 可以看出, 细胞经  $\gamma$  射线辐照后还存在着修复亚致死损伤的能力, 属多靶模型<sup>[4]</sup>; 经重离子辐照后, 细胞修复亚致死损伤的能力被抑制, 属单靶模型。

Tab.1 The  $D_0$ 、 $D_q$ 、 $D_{37}$  and  $N$  of V79 cells irradiated with ionizing radiations in different LET

Type of irradiation	$D_0$	$D_q$	$D_{37}$	$N$
$\gamma$ ray	2.65	2.5	5.15	2.4
LET <sub>125</sub> $^{12}\text{C}^{6+}$	2.35	0	2.35	1
LET <sub>200</sub> $^{12}\text{C}^{6+}$	2.75	0	2.75	1
LET <sub>700</sub> $^{12}\text{C}^{6+}$	3.00	0	3.00	1

## 2.2 细胞失活截面和相对生物学效应

失活截面( $\sigma$ )反映单个离子杀死细胞的能力, 其值一般随 LET 值的增加而增加。在饱和效应下, 最大失活截面是一个近似于细胞核核截面的值<sup>[5]</sup>。当细胞存活比率与粒子注量呈指数关系时, 存活比率由  $S/S_0 = \exp(-\sigma\Phi)$  决定, 由于  $S_0=1$ , 因此  $\sigma = -\ln S/\Phi$ , 它的几何意义就是存活曲线的斜率。表 2 给出了 3 种 LET 碳离子的失活截面, LET 值为 125、200、700 keV/ $\mu\text{m}$  时得到的失活截面分别为 35、12、8  $\mu\text{m}^2$ , 其由大到小的趋势与失活效应一致。哺乳动物细胞的核截面约为 100  $\mu\text{m}^2$  左右<sup>[6]</sup>, 本实验的结果提示: 需要  $\geq 2$  个碳离子穿越才有可能杀死细胞。如果用更重的离子如 Fe、Ar 等辐照细胞, 最大失活截面可增至近似细胞核的核截面, 只需一个离子就能杀死细胞。

Tab.2 The inactivation cross sections and relative biological effectivenesses of carbon ions with different LET

LET/keV $\mu\text{m}^{-1}$	$\sigma/\mu\text{m}^2$	RBE <sub>0.1</sub> <sup>(1)</sup>	RBE <sub>0.37</sub> <sup>(2)</sup>
125	35	1.47	2.19
200	12	1.34	1.87
700	8	1.18	1.72

<sup>(1)</sup>RBE was calculated when surviving fraction is 0.1; <sup>(2)</sup>RBE was calculated when surviving fraction is 0.37

相对生物效应(relative biological effectiveness, RBE)是一个与 LET 有密切关系的概念,  $\text{RBE} = X$  或  $\gamma$  射线所产生的生物效应的剂量/所试辐射产生相同生物效应的剂量。早已发现, 在剂量相同时, 高 LET 辐射产生的生物效应大于低 LET 辐射所致生物效应。表 2 给出了 3 种不同 LET 碳离子辐照 V79 细胞后在存活比率分别为 0.1 和 0.37 时的 RBE 值, 其中以 LET 值为 125keV/ $\mu\text{m}$  的 RBE 值最高。

Thacker<sup>[7]</sup>用  $\alpha$  离子和氮离子等辐照中国仓鼠肺 V79 细胞的实验结果表明: RBE 值在 LET 大于 10 keV/ $\mu\text{m}$  后随 LET 的增加而上升, 在 90—200 keV/ $\mu\text{m}$  时细胞存活比率为 0.1 的 RBE 达到最大值为 4.5。Furusawa<sup>[9]</sup>辐照 V79 细胞的结果表明, 细胞存活比率为 0.1 时的 RBE 在 LET 为 100—200 keV/ $\mu\text{m}$  时是 3.3。Tsuboi<sup>[10]</sup>等用铁离子辐照人成纤维细胞的实验发现, 细胞存活比率为 0.1 时的 RBE 在 LET 为 150 keV/ $\mu\text{m}$  时达到最大值 3.7。本实验得出

的 RBE 与上述文献一致,但最大 RBE 值偏低,原因有待于分析。

重离子的细胞杀伤效应是一个极其复杂的作用,通过同一种离子在不同 LET 值下的存活效应研究表明:最大失活效应、失活截面和相对生物学效应都在同一 LET 值下得到。随着 LET 值的进一步增大,重离子特性的描述已不能只靠线性能量传递,与原子序数和能量也密切相关,因此,在临床治疗中,离子种类及其物理参数的选择必需综合考虑各种因素。

## 参 考 文 献

- 1 夏寿萱. 放射生物学, 北京: 军事医学科学出版社, 1998, 16—12  
XIA S X. Radiobiology. Beijing: Military Medical Press, 1998, 16—20
- 2 Barendsen G W, Walter H M D, Fowler J P *et al.* Radiat Res, 1963, **18**(2): 106—199
- 3 Todd P W. Radiat Res, 1967, **7**: S196—S207
- 4 Weisbrod U, Buckner H, Horneck G *et al.* Radiat Res, 1992, **129**(3): 250—257
- 5 Wulf H, Kraft W, Miltenburger H G *et al.* Radiat Res, 1985, **104**: 122—134
- 6 袁雄. 重离子辐照人支气管上皮细胞的生物学效应, 博士论文, 北京: 军事医学科学院, 1998  
YUAN X. The Radiation Effects of Human Bronchial Epithelial Cells by Heavy Ions, Doctoral Thesis. Beijing: Academy of Military Medicine, 1998
- 7 Thacker J, Stretch A, Stephens A. Int J Radiol Biol, 1979, **36**(2): 137—148
- 8 Stoll U, Schmidt A, Schneider E *et al.* Radiat Res, 1995, **142**(2): 288—294
- 9 Furusawa Y, Fukutsu K, Ando K. Biological effectiveness of heavy ion beams on cultured mammalian cells. RIKEN Accelerator Progress Report 1997
- 10 Tsuboi K, Yang T C, Chen D J. Radiat Res, 1992, **129**(2): 171—176

## THE SURVIVAL EFFECTS OF V79 CELLS IRRADIATED WITH CARBON IONS IN DIFFERENT LET

WANG Jufang ZHOU Guangming HE Jing LI Wenjian LI Qiang  
DANG Bingrong LI Xinglin WENG Xiaoqiong Xie Hongmei WEI Zengquan  
(Institute of Modern Physics, the Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000)

GAO Qingxiang  
(Department of Biology, Lanzhou University, Lanzhou 730000)

**ABSTRACT** In this study, the survival of cultured Chinese V79 hamster cells irradiated with carbon ions with different LETs were investigated. Irradiation was performed at the Heavy Ion Research Facility in Lanzhou (HIRFL). Results were compared with those obtained from the experiments with  $\gamma$  rays and could be concluded as follows: The survival curves for carbon ions showed as straight lines and were fitted to the one-target one-hit model, but for  $\gamma$  rays the curves with shoulders were fitted to the multi-target one-hit model. As the LETs were 125, 200 and 700 keV/ $\mu$ m for carbon ions, the inactivation cross section 35, 12 and 8  $\mu$ m<sup>2</sup>, respectively, which suggested that under the experimental conditions, the lower the LET of carbon ions, the more seriously the irradiation killed cells. In the case of 125 keV/ $\mu$ m, the RBEs of carbon ions at the 0.1 and 0.37 survival levels were 1.47 and 2.19 respectively.

**KEYWORDS** Linear energy transfer, Carbon ions, V79 cell, Survival fraction, Inactivation cross section, Relative biological effectiveness

CLC Q691. R730