

# 重离子束诱发细胞染色体断裂产额的计算模拟

杨建设<sup>1</sup> 李文建<sup>1</sup> 荆西刚<sup>1,2</sup> 金晓东<sup>1</sup> 魏巍<sup>1,2</sup> 郭传玲<sup>1,2</sup> 高清祥<sup>3</sup>

<sup>(1)</sup>(中国科学院近代物理研究所 兰州 730000)

<sup>(2)</sup>(中国科学院研究生院 北京 100039)

<sup>(3)</sup>(兰州大学生命科学学院 兰州 730000)

**摘要** 建立了一种简捷的方法来计算细胞接受重离子照射后发生染色体断裂的产额。L02 细胞接受碳离子照射后染色体断裂的产额,并应用早熟染色体凝集技术获得该细胞在经重离子照射后的染色体断裂产额的实验值。通过理论计算,得到了<sup>12</sup>C<sup>6+</sup>照射人正常肝细胞 L02 后不同吸收剂量点的染色体断裂产额,与应用早熟染色体凝集技术实验中实际获得的染色体断裂产额基本吻合。说明,细胞在接受重离子束照射的初始阶段可能是物质相互作用的物理过程,细胞内的生物机能对这一过程的干预尚未启动。提示重离子的高相对生物学效应与重离子的物理特性密切相关。

**关键词** 重离子, 细胞, 染色体断裂, 计算, 模拟  
中图分类号 TL56, TL99, Q343.2<sup>+</sup>45, Q691.5

重离子是目前放射治疗领域内公认的最有效的粒子,这是因为它具有显著优于其它普通射线如 X 射线的生物物理学特性<sup>[1]</sup>,如相对生物学效应高、氧增比低、修复效应低、侧向散射低等。一般认为,生物材料对不同射线的辐射敏感性决定了辐射导致生物学终点的差异。那么,对于重离子而言,其高的相对生物学效应是由什么决定的呢?在本研究中将通过理论模拟单位细胞内的染色体断裂产额,并应用早熟染色体凝集技术获得的实际染色体断裂产额作比较研究,以期对重离子的高的相对生物学效应机理给出解释。

## 1 材料和方法

### 1.1 重离子基本参数描述

实验采用兰州重离子加速器装置产生的单核能为 80.55 MeV/u 的<sup>12</sup>C<sup>6+</sup>,经 13.58 mm Lucite ( $\rho=1.2\text{ g/cm}^3$ )降能,最后达到细胞表面的总能量为 240 MeV,在水中射程 1.41 mm,传能线密度 (Linear energy transfer, LET) 为 96.05 keV/ $\mu\text{m}$ 。辐照装置终端引出束流的照射样品直径  $\phi=35\text{ mm}$ ,均匀度为 71%。

### 1.2 细胞培养及辐照

人正常肝细胞系 L02,购自中国典型培养物保

藏中心 (Chinese Center of Type Culture Collection, CCTCC) 用含有 10%胎牛血清的 RMPI-1640 培养液在 37<sup>°</sup>, 5%CO<sub>2</sub> 的恒温培养箱内培养,培养基内另加入胰岛素 0.25 U/mL。细胞浓度为  $5\times 10^6/\text{mL}$ 。将充分混匀的 2 mL L02 细胞悬液接种在 35 mm 的一次性培养皿中,在细胞数量大约一次倍增时进行照射。实验照射剂量为 0、0.5、1、2、6、8 Gy,被照射样品处在束流 Bragg 峰区。

### 1.3 L02 细胞经<sup>12</sup>C<sup>6+</sup>离子辐照后染色体断裂产额的计算模拟

<sup>12</sup>C<sup>6+</sup>与染色体相互作用诱发染色体断裂是<sup>12</sup>C<sup>6+</sup>在染色体中发生能量阻止,将其能量传递给染色体的过程。因此,染色体断裂的产额与单位细胞内注入的离子数相关。也就是说,与单位面积上的离子通量相关。剂量与离子通量之间的关系可以用下面的公式表示<sup>[1]</sup>:

$$D = 1.602 \times 10^{-9} \times F \times \text{LET} \times \frac{1}{\rho_{\text{材料}}} \quad (1)$$

式中, $D$ 为细胞吸收剂量, $F$ 为离子通量,LET为<sup>12</sup>C<sup>6+</sup>到达细胞时的线性传能密度, $\rho_{\text{材料}}$ 是被照

国家自然科学基金 (10335050) 国家科技部重大基础研究前期研究专项 (2003CCB0020) 资助

第一作者:杨建设,男,1975年8月出生,2005年在中国科学院近代物理研究所获博士学位,辐射生物学专业,助理研究员

收稿日期:初稿 2005-07-05,修回 2004-09-28

射靶的密度,细胞是照射的靶,我们将其密度近似为水的密度,即  $1\text{ g/cm}^3$ 。那么对应于不同的剂量,实时离子通量可以表示为:

$$F = \frac{D \times 1\text{ g/cm}^3}{1.602 \times 10^{-9} \times \text{LET}} \quad (2)$$

假设每一个  $^{12}\text{C}^{6+}$  可以有效地击中染色体并产生一个断裂,那么在接种 35 mm 培养皿内的 L02 细胞接受照射后平均每细胞内染色体断裂的产额可以表示为:

$$N = \frac{F \times \frac{\pi \phi^2}{4}}{5 \times 10^6 \times 2} \quad (3)$$

#### 1.4 早熟凝集染色体制备方法和染色体断裂产额实验值

Calyculin-A (购自美国 BIOMOL 公司)是一种良好的早熟染色体凝集 (Premature chromosome condensation, PCC) 诱导剂<sup>[2,3]</sup>,将其溶于 100% 的乙醇里制成 1 mmol/L 的储存液。照射前将其加入需照射细胞的培养液内,终浓度为 50 nmol/L。细胞经照射后在 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 的恒温培养箱内继续培养 30 min。收集细胞,75 mmol/L KCl 低渗处理 20 min,卡诺氏液固定,最后以少量固定液悬浮细胞,滴片,在热蒸汽上烘干,5% Giemsa 染色。

按照文献[4]报道的标准,每个剂量点观察不少于 40 个的 G<sub>2</sub> 期细胞,求出这些细胞内染色单体和等点染色单体的平均断裂数,即为该剂量点的染色单体和等点染色单体断裂数,每个等点染色单体断裂被计为两个断裂。

统计处理:数据采用 SPSS 8.0 (Statistical Package for the Social Science) 进行统计分析,结果以  $\bar{x} \pm s$  表示。

## 2 结果

### 2.1 L02 细胞接受照射后染色体断裂模式与产额的理论计算值

假设每一个  $^{12}\text{C}^{6+}$  击中细胞可产生一个染色体断裂,图 1 是理论计算得到的细胞染色体断裂产额与吸收剂量之间的关系。从图 1 中可以看出,染色体断裂的产额与剂量之间呈线性正相关关系,由算式 (1) 可知,离子通量与剂量之间也是正相关的,所以,染色体断裂的产额正相关于离子通量。

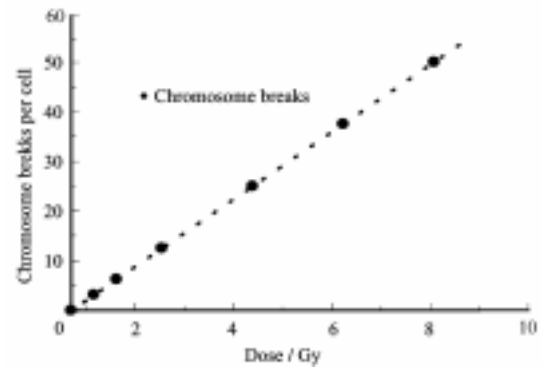


Fig.1 Correlation between chromosome breaks and ion flux of  $^{12}\text{C}^{6+}$ . Assuming that a  $^{12}\text{C}^{6+}$  ion was to produce one chromosome break ( $n=1$ )

### 2.2 L02 细胞接受照射后染色体断裂模式与产额的实验值

L02 细胞在接受不同剂量的  $^{12}\text{C}^{6+}$  照射后,应用早熟染色体凝集技术观测到了细胞内发生了不同程度的染色体断裂。染色体断裂的形式有染色单体断裂 (Chromatid break) 和等点染色单体断裂 (Isochromatid break) 两种,从图 2 中可以看到,随着剂量的增加,两种形式的染色体断裂产额都相应增加。在每一个剂量点,等点染色单体断裂的产额都显著地高于染色单体断裂。

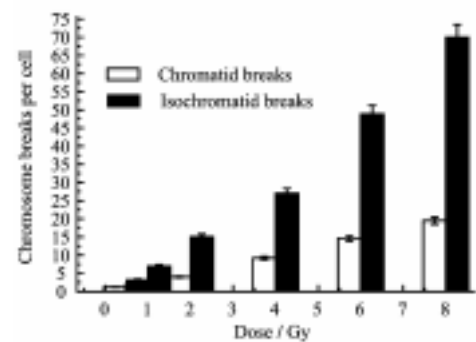


Fig.2 Experimental data of chromosome breaks of L02 cells irradiated with  $^{12}\text{C}^{6+}$  ions. □ Chromatid breaks. ■ Isochromatid breaks, ( $p < 0.001$ )

### 2.3 染色体断裂的理论计算值与实验值之间的关系

每一个等点的染色单体断裂可以计数为两个染色体断裂。那么,实验测得的染色体断裂总产额等于染色单体断裂产额和两倍等点的染色单体断裂产额之和。从图 3 中可以看出,理论计算的染色体断裂产额与实验值和吸收剂量都呈线性正相关关系。假设每一个  $^{12}\text{C}^{6+}$  照射细胞只产生一个染色体断裂 ( $n=1$ ),那么理论值和实验值之间存在很大差距,当每一个  $^{12}\text{C}^{6+}$  照射细胞产生三个染色体断裂 ( $n=3$ ) 时,理论值和实验值之间符合良好。

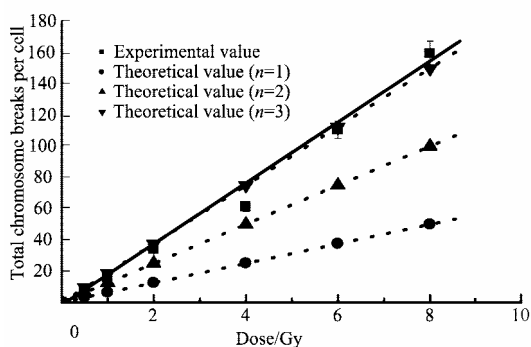


Fig.3 Comparison of theoretical value of chromosome breaks of L02 cells exposed to the  $^{12}\text{C}^{6+}$  ions with tested data.  
Theoretical value, —Experimental data

### 3 讨论

和普通射线，如 X 射线相比，重离子具有特有的生物物理性质，如高相对生物学效应、低氧增比、低修复效应、低侧向散射等，这使得重离子成为目前肿瘤放射治疗手段中最优化的放射束。高的相对生物学效应直接决定了重离子的肿瘤杀伤效率，即用等同于普通射线的剂量可以达到数倍于普通射线的治疗效果。那么重离子的高相对生物学效应是如何产生的呢？是纯粹的物理效应，还是物理效应与生物效应的叠加？

细胞内生物酶系统的应激启动不是即时的，如染色体损伤的修复是要在细胞损伤后 2—12h 内进行<sup>[5]</sup>。

可见，重离子辐照细胞后产生的原初染色体断裂是完全物理作用的结果，那么和普通射线相比，为什么重离子在致染色体损伤方面具有高的相对生物学效应（Relative biological effectiveness, RBE）呢？先前的研究资料表明<sup>[6,7]</sup>，普通射线照射细胞，产生的染色体断裂多为染色单体断裂，而重离子射线由于具有的高的线性传能密度，在单位体积的靶物质内损失的能量远高于普通射线，对染色体而言，单个的重离子轰击可能会产生多个染色体断裂，这是重离子具有高 RBE 的很重要的因素。

在这次实验中，用  $^{12}\text{C}^{6+}$  照射 L02 细胞获得的染色体断裂产额，染色体不同断裂形式的比例与上述报道是完全一致的。通过理论计算，得出了染色体断裂产额与离子通量之间具有正相关的线性增长趋势。理论模拟值在  $n=1$  时比实验中的实测值小。

当  $n=3$  时，理论值和实验值之间的一致性良好。从理论上推算，此次实验中每一个  $^{12}\text{C}^{6+}$  照射细胞可产生大约三个染色体断裂，三个染色体断裂的类型分布可能是：1 染色单体断裂+1 等点染色单体断裂。随着剂量的增加，也即离子通量增大，两种类型染色体断裂的比例分布差距逐步增加。

实验值和理论值之间存在差距的原因可能在于以下几个方面：理论计算值限定的条件是离子束的均匀度应大于 95%，而这次束流的均匀度只达到了 71%，有证据表明<sup>[1]</sup>，束流均匀度的大小与生物效应密切相关，高的均匀度可以产生高的生物学效应。在理论计算的预设条件中定义一个离子只产生一个染色体断裂，而实际情况是，一个高能  $^{12}\text{C}^{6+}$  可能会导致一个或者更多的染色体断裂，这是一个随机过程，目前还无法在理论计算中模拟。

综合看来，如果充分考虑到各种随机因素和客观偏差，重离子辐照 L02 细胞导致染色体断裂的产额理论值和实验值的一致性良好的。提示在应用重离子束放射治疗恶性肿瘤的临床治疗计划中，可以通过理论计算预测该束流对于特定肿瘤细胞的相对生物学效应，这样不仅可以较为精确地设定并优化辐射总剂量，而且避免了在线测试。大大降低了辐射风险。

致谢 这项工作的开展得到了兰州重离子加速器系统工作人员的大力支持，由于人员众多，不一一列举，在此向他们致以诚挚的谢意。

### 参考文献

- 1 Kraft G. Prog Part Nucl Phys, 2000, 45(Suppl): 473-544
- 2 Gotoh E, Kawata T, Durante M. Int J Radiat Biol, 1999, 75(6): 1129-1135
- 3 Kawata T, Gotoh E, Durante M, et al. Int J Radiat Biol, 2000, 76(5): 929-938
- 4 Savage J R. J Med Genet, 1976, 13(1): 103-122
- 5 Nasonova E, Gudowska E, Ritter S, et al. Int J Radiat Biol, 2001, 77(1): 59-70
- 6 Kawata T, Ito H, George K, et al. Radiat Res, 2003, 159(3): 597-603
- 7 Kawata T, Durante M, Frusawa Y, et al. Int J Radiat Biol, 2001, 77(1): 165-174

## Computational simulation of chromosome breaks in human liver

YANG Jianshe<sup>1</sup> LI Wenjian<sup>1</sup> JING Xigang<sup>1,2</sup> JIN Xiaodong<sup>1</sup> WEI Wei<sup>1,2</sup>  
GUO Chuanling<sup>1,2</sup> GAO Qingxiang<sup>3</sup>

<sup>1</sup>(Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000)

<sup>2</sup>(Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039)

<sup>3</sup>(Life Science School of Lanzhou University, Lanzhou 730000)

**ABSTRACT** An easy method was established for computing chromosome breaks in cells exposed to heavily charged particles. The cell chromosome break value by  $^{12}\text{C}^{+6}$  ions was theoretically calculated, and was tested with experimental data of chromosome breaks by using a premature chromosome condensation technique. The theoretical chromosome break value agreed well with the experimental data. The higher relative biological effectiveness of the heavy ions was closely correlated to its physical characteristics. In addition, the chromosome break value can be predicted off line.

**KEYWORDS** Carbon ion, Cell, Chromosome break, Compute, Simulation

**CLC** TL56, TL99, Q343.2<sup>+</sup>45, Q691.5