

α/β 值与肿瘤细胞辐射敏感性及肿瘤细胞 分次照射生物学效应研究

郭传玲^{1,2} 王菊芳¹ 金晓东¹ 李文建¹

¹ (中国科学院近代物理研究所 兰州 730000)

² (中国科学院研究生院 北京 100049)

摘要 为考察恶性肿瘤细胞的分次照射效应,选取5种具有高辐射抗性的恶性肿瘤细胞系分别进行单次和分次的 γ 射线照射,比较它们的剂量存活曲线的 α/β 值及 D_{50} 、 D_{10} 值。结果表明, D_{50} 的分次照射效应的高-低排列次序为:SMMC-7721、HeLa、A549、HT29和PC3细胞, D_{10} 的分次照射效应的高-低排列次序为:SMMC-7721、HeLa、PC3细胞、A549和HT29细胞。5种肿瘤细胞的 α/β 值的低-高排列次序为:SMMC-7721、PC3、HeLa、A549和HT29细胞;除PC3细胞外,其余四种细胞的辐射敏感性和分次效应均与 α/β 值相关, α/β 值越小,细胞越不敏感且分次效应越明显。不同组织来源的肿瘤细胞的辐射敏感性差异较大,其修复功能和分次照射的生物学效应也有相应的差异,部分肿瘤细胞的辐射敏感性和分次照射的生物学效应与其修复能力相关,单次照射剂量存活曲线的参数 α/β 值可作为检测肿瘤细胞的辐射敏感性和分次照射的生物学效应的标准。

关键词 肿瘤细胞,辐射敏感性,分次照射的生物学效应,剂量存活曲线

中图分类号 R730, Q691

放射治疗是目前肿瘤治疗主要手段之一。但同一照射剂量对不同细胞造成的损伤有很大差异;相同剂量照射下,不同个体的同一种细胞也会有不同的反应。这是由细胞对辐射的敏感性不同造成的,也称为辐射敏感性差异。因此,各种肿瘤病人甚至同种肿瘤患者间的放疗疗效大不相同。如能预先了解病人的辐射敏感性,则将有利于放疗方案制定、有针对性地提高放疗疗效。但是,仅知道细胞的辐射敏感性对于临床治疗的意义是不完整的。肿瘤的放射性治疗总是按照一定的总剂量进行分次照射,但每次照射所致的损伤有可能得到部分修复,那些能积累并有效地修复损伤的细胞就获得了相应的保护。一个放疗的分次愈多,总治疗时间愈长,显然对增殖快的组织有利。分次和延长治疗时间还会有利于乏氧细胞的再氧合,导致处于细胞周期的细胞分布的改变,这些都将影响最终的照射生物学效应。因此,考察不同组织来源的肿瘤细胞接受分次照射的生物学效应,为临床制定出合理的分次照射方案,有着更为重要的意义^[1]。

亚致死损伤(Sublethal damage)是哺乳动物辐射损伤的一种重要类型,是影响细胞分次照射生物

学效应的一个重要因素。Kellerer和Rossi于1972年根据二元辐射作用(Dual-radiation action)理论提出了细胞剂量-存活曲线的线性平方模型,也称为连续弯曲模型^[2], $S = \exp(-\alpha D - \beta D^2)$,式中 S 为照射 D 剂量后的细胞存活率, α 和 β 是常数。 α 代表起始斜率,决定低剂量照射下损伤的程度; β 代表效应的超线性部分,是造成曲线的弯曲和产生分割剂量的节制效应,即 β 反映亚致死损伤修复,其贡献随照射剂量增加而加大。此后,不少作者研究了 α 、 β 值和细胞放射损伤修复的相关性,研究表明, α/β 值是衡量修复效应的一个重要指标, α/β 值越大,表明细胞修复能力越弱^[3]。而细胞的修复能力直接影响细胞的辐射敏感性和分次照射的细胞生物学效应,因此 α/β 值似可作为衡量细胞辐射敏感性和分次照射细胞生物学效应的一个指标。

本实验拟选取5种来源于人体不同组织的具有高辐射抗性恶性肿瘤细胞系,即人肝癌细胞SMMC-7721、人肺腺癌细胞A549、人宫颈癌细胞HeLa、人结肠癌细胞HT29和人前列腺癌细胞PC3,分别进行单次和分次的 γ 射线照射,收集照射后5种细胞的剂量存活曲线及 D_{50} 与 D_{10} (细胞存活分数

科技部重大基础前期研究专项基金(2003ccb00200)、国家自然科学基金重点项目(100335050)资助

第一作者:郭传玲,女,1980年11月出生,2003年毕业于复旦大学生物科学专业,现于中国科学院近代物理研究所攻读生物物理学专业硕士学位

收稿日期:初稿 2006-03-10,修回 2006-05-17

为50%和10%时所需剂量)作为标准对5种细胞的辐射敏感性加以比较,同时以细胞单次和分次照射 D_{50} 、 D_{10} 之差作为衡量分次效应的指标,考察5种细胞的分次效应,同时考察细胞辐射敏感性和细胞分次照射的生物学效应与细胞单次照射存活曲线的 α/β 值之间的相关性。

1 材料与方法

1.1 细胞及其培养

实验所用培养基为含10%类标准胎牛血清(兰州民海)的RPMI-1640(GIBCO)培养液,置于5%CO₂培养箱中37℃培养。根据预实验绘制的生长曲线,细胞传代20h后处于对数生长期,选取此时的细胞进行照射。

1.2 辐照

用兰州医学院第一附属医院放射科的⁶⁰Co源进行 γ 射线照射。单次照射共设0Gy、0.5Gy、1Gy、1.5Gy、2Gy、3Gy、4Gy和6Gy 8个剂量点,分次照射相应设0Gy+0Gy、0.5Gy+0.5Gy、1Gy+1Gy、1.5Gy+1.5Gy、2Gy+2Gy和3Gy+3Gy 6个剂量点,分次照射时间间隔设为6h。照射温度为4℃,剂量率为0.5Gy/min。每个剂量点设3个平行样品。

1.3 照射后处理

照射后的细胞经胰蛋白酶消化后进行细胞精确计数。选择合适的稀释倍数稀释后,以每皿含有100—200个可存活细胞的细胞量种植于培养皿中,置于二氧化碳培养箱中37℃培养7d。用1%甲基蓝进行染色,统计细胞数大于50个的克隆数。

1.4 实验数据获取

细胞存活分数(Survival fraction, SF)按公式(1)计算:

$$SF(\%) = (S_x / S_0) \times 100\% \quad (1)$$

式中 S_x 和 S_0 分别为受照细胞和对照细胞的克隆形成率。最后获取的SF值为三组平行样品的 $\bar{x} \pm s$ 。分别绘制5种细胞单次及分次照射的剂量-存活曲线,利用Microcal origin 6.0软件进行线性平方模型的拟合,获取 α 、 β 值,得到5种细胞的线性平方模型的方程 $S = \exp(-\alpha D - \beta D^2)$ 。设S值为0.5或0.1,求得5种细胞单次及分次照射的 D_{50} 、 D_{10} 值。

2 实验结果

从图1和图2可看出单次、分次照射5种肿瘤细胞的辐射敏感性存在差异,由表1中5种细胞单次分次照射的 D_{50} 、 D_{10} 也可以看出细胞辐射敏感性之间的差异: D_{50} 、 D_{10} 是衡量细胞辐射敏感性的重要指标。 D_{50} 、 D_{10} 越大,辐射敏感性越低。结果显示,单次和分次照射5种肿瘤细胞,其辐射敏感性由高至低排列依次为:PC3细胞、HT29细胞、A549细胞、HeLa细胞、SMMC-7721细胞。同时我们以分次照射和单次照射的 D_{50} 、 D_{10} 差值作为标准考察5种细胞的分次效应,结果显示: D_{50} 显示的分次效应由高至低排列依次为:SMMC-7721细胞、HeLa细胞、A549细胞、HT29细胞、PC3细胞;而 D_{10} 显示的分次效应由高至低排列依次为:SMMC-7721细胞、HeLa细胞、PC3细胞、A549细胞、HT29细胞。5种肿瘤细胞的 α/β 值由低到高排列依次为:SMMC-7721细胞、PC3细胞、HeLa细胞、A549细胞、HT29细胞;除了PC3细胞之外,其余4种细胞的辐射敏感性和分次效应均与 α/β 值相关, α/β 值越小,细胞越不敏感且分次效应越明显。

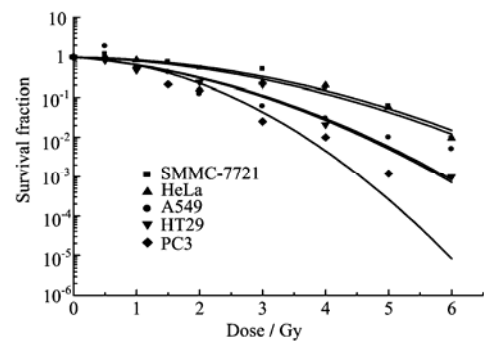


Fig.1 Dose-survival curves of the five tumor cells with single irradiation

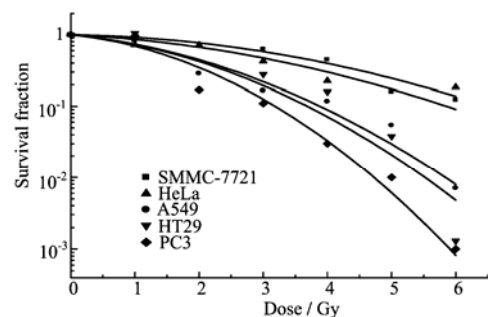


Fig.2 Dose-survival curves of the five tumor cells with fractional irradiation
Each of the doses was given to the samples in two irradiations of half the dose

Table 1 Results of the five tumor cells irradiated by ^{60}Co γ -rays

Cell samples	SMMC-7721	HeLa	A549	HT29	PC3
α/β	0.36	0.94	1.87	1.99	0.50
D_{50} of single irradiation / Gy	2.3	2.1	1.4	1.4	1.3
D_{50} of fractional irradiation / Gy	3.4	2.9	1.8	1.7	1.5
ΔD_{50} / Gy	1.1	0.8	0.4	0.3	0.2
$\Delta D_{50} / D_{50}$ of single irradiation / %	48	38	29	21	15
D_{10} of single irradiation / Gy	4.4	4.2	3.1	3.0	2.5
D_{10} of fractional irradiation / Gy	6.5	5.9	3.9	3.7	3.2
ΔD_{10} / Gy	2.1	1.7	0.8	0.7	0.7
$\Delta D_{10} / D_{10}$ of single irradiation / %	48	40	26	23	28

3 讨论

对于5种来源于不同组织的人肿瘤细胞, 单次和分次照射的辐射敏感性顺序无显著变化。在总剂量一定的条件下, 分次照射的细胞存活分数均明显高于单次照射后的细胞存活分数, 且分次照射的 D_{50} 、 D_{10} 均高于单次照射。也即在两次照射间隔的6h内, 5种肿瘤细胞都存在亚致死损伤修复。5种细胞单次照射的剂量-存活曲线都存在明显的弯曲度, 而亚致死损伤修复程度和存活曲线弯曲度的相关性很好, 这是因为两者都是同一基本现象(亚致死损伤修复的累积)的表现^[1], 所以5种细胞都应该存在亚致死损伤修复, 这也与5种肿瘤细胞在临床上对放疗的高抗性表现一致。文献[3]表明, α/β 值与细胞的亚致死损伤修复相关, α/β 值越大, 表明该细胞的修复能力越弱; 而亚致死损伤修复是细胞对射线不敏感及细胞分次照射存活高于单次照射的主要原因, 所以 α/β 值应与细胞的辐射敏感性和分次效应相关联。文献[4]的研究表明, α/β 值与细胞的辐射敏感性之间呈正相关, 但其与细胞的分次照射效应的关系尚不明确。本文表1的数据表明, SMMC-7721、PC3、HeLa、A549与HT29细胞的 α/β 值依次升高, 即细胞的修复能力应相应依次降低, 则细胞的敏感性应增加, 而分次照射效应也应依次减弱。结果显示, 除PC3细胞外的4种细胞均显示出这种相关性。对于PC3细胞, α/β 值排第二位, 细胞却最敏感, D_{50} 显示的分次效应最弱, 而 D_{10} 显示的分次效应升至第三位, 这与前面提到的 β 组分反映亚致死损伤修复, 其贡献随照射剂量增加而

加大相一致, 随着剂量的增加, 其分次效应是否会进一步升高有待考证。但其余4种细胞并未发现随着剂量的增加分次效应变明显的现象。同时考虑PC3细胞的辐射敏感性远远低于其它4种细胞, 所以造成它分次效应与其余4种细胞不同的原因还需进一步研究。

本研究表明: 电离辐射作用后, 不同组织来源的肿瘤细胞的辐射敏感性有较大差异, 其各自的修复功能和分次照射的生物学效应也有相应的差异, 且部分肿瘤细胞的辐射敏感性和分次照射的生物学效应与其修复能力呈明显相关, 单次照射剂量存活曲线的参数 α/β 值可以作为标准来检测肿瘤细胞的辐射敏感性和分次照射的生物学效应, 这可为肿瘤细胞的放射生物学基础研究和临床治疗放疗方案的决策提供重要参考。

参考文献

- 1 沈瑜, 糜福顺. 肿瘤放射生物学. 北京: 中国医药科技出版社, 2002. 133-142
SHEN Yu, MI Fushun. Tumor radiobiology. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2002. 133-142
- 2 Radford I R, Hodgson G S, Matthews J P. Int J Radiat Biol, 1988, 54:63-79
- 3 Weyrather W K, Ritter S, Scholz M, et al. Int J Radiat Biol, 1999, 75(6): 1357-1364
- 4 郭传玲, 王菊芳, 金晓冬, 等. 同位素, 2005, 18(3): 164-166
GUO Chuanling, WANG Jufang, JIN Xiaodong, et al. Journal of Isotopes, 2005, 18(3): 164-166

Relationship between α / β and radiosensitivity and biologic effect of fractional irradiation of tumor cells

GUO Chuanling^{1,2} WANG Jufang¹ JIN Xiaodong¹ LI Wenjian¹

¹(Institute of Modern Physics, the Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000)

²(Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049)

ABSTRACT Five kinds of malignant human tumor cells, i.e. SMMC-7721, HeLa, A549, HT29 and PC3 cell lines, were irradiated by ⁶⁰Co γ -rays to 1—6 Gy in a single irradiation or two irradiations of half dose. The radiosensitivity was compared with the dose-survival curves and D_{50} and D_{10} values. Differences in the D_{50} and D_{10} between the single and fractional irradiation groups showed the effect of fractional irradiation. Except for PC3 cells, all the cell lines showed obvious relationship between radiosensitivity and biologic effect of fractional irradiation and the α/β value. A cell line with bigger α/β was more radiation sensitive, with less obvious effect of fractional irradiation. The results indicate that there were obvious differences in radiosensitivity, repair ability and biologic effect of fractional irradiation between tumor cells from different tissues. To some tumor cell lines, the relationship between radiosensitivity, biologic effect of fractional irradiation and repair ability was attested. The α/β value of single irradiation can be regarded as a parameter to investigate the radiosensitivity and biologic effect of fractional irradiation of tumor cells.

KEYWORDS Tumor cells, Radiosensitivity, Biologic effect of fractional irradiation, Dose-survival curve

CLC R730, Q691