

仓鼠 V79 细胞对加速碳离子的 辐照致死效应 *

李 强 周光明 王菊芳 李文建 卫增泉

(中国科学院近代物理研究所 兰州 730000)

摘要 分别测定了传能线密度 (LET) 为 125.5、200、700 keV/ μm 碳离子辐照仓鼠 V79 细胞的存活曲线, 由存活曲线确定了上述 3 种碳离子辐照时 V79 细胞的失活截面依次为 7.86 ± 0.17 、 10.44 ± 1.11 、 $32.32 \pm 3.58 \mu\text{m}^2$ 。以 V79 细胞对 ^{60}Co γ 射线的存活响应为参考值, 给出了对应于上述 3 种碳离子照射 10%、20%、50%、80% 存活水平下的相对生物学效应 (RBE), 结果表明 125.5 keV/ μm 碳离子的 RBE 值在各个存活水平下都为最大。提示: 以存活为生物学终点的 RBE 最大值在 LET 值小于 200 keV/ μm 的碳离子辐照时出现。

关键词 碳离子, V79 细胞, 失活截面, 相对生物学效应

中图分类号 Q691, R730

地面加速重离子的辐射生物学作用不仅为基础研究所重视, 同时它也有实际应用的可能。由于重离子特殊的能量沉积方式, 重离子为放射治疗提供了最具潜力的工具^[1], 利用其能量沉积 Bragg 峰区最大限度地杀死癌细胞, 而离子通道上的正常组织受到保护。另一方面重离子也是外层空间辐射场的主要成分, 因而也是对载人太空飞行造成危害的因素之一^[2,3]。本工作利用兰州重离子研究装置 (HIRFL) 提供的加速碳离子, 研究了它们对仓鼠 V79 细胞辐照致死作用, 为检验和发展重离子辐照生物学效应理论模型提供了实验数据, 同时, 又提供了重离子束治疗癌症和辐射防护应用的基础数据。

1 材料与方法

1.1 细胞及培养

中国仓鼠肺 V79 细胞, 购自中国医学科学院北京肿瘤研究所。用含 10% 小牛血清的 RPMI-1640 培养基 (Gibco 产品) 于培养瓶中在 37°C、CO₂ 培养箱中培养, 每 2~3 天消化传代一次。 γ 射线辐照直接在培养瓶中自然条件即有氧条件下进行; 碳离子辐照前 1 天, 将细胞按 $5 \times 10^4/\text{mL}$ 接种于玻璃培养皿 ($\phi 35\text{mm}$) 中培养。

1.2 辐照

碳离子辐照在兰州重离子研究装置 (HIRFL) 的辐照终端 (TL2) 上进行。通常, 哺乳动物细胞受重离子照射后响应的生物物理模型指出, 象碳离子这样的高 LET 辐射, 以细胞存活为终点的相对生物学效应最大出现在 LET 为 200 keV/ μm 附近, 因而我们对 HIRFL 提供 50 MeV/u $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束, 在束流线中加入不同厚度的有机玻璃 (PMMA, $\rho = 1.19\text{g}/\text{cm}^3$) 降能片, 将束流

* 国家攀登计划资助 (85-45-1-3) 和甘肃省自然科学基金资助 (A57)

收稿日期: 初稿 1999-09-24, 修回 2000-01-03

能量分别降至 14.54、8.18、0.86 MeV/u, 这些能量碳离子对应的 LET 分别为 125.5、200、700 keV/ μm 。辐照前吸出培养基, PBS 缓冲液洗涤一次, 用经灭菌的 4 μm 厚的 Mylar 膜将培养皿封口, 于自然条件即有氧条件下辐照。培养皿安装在 HIRFL 辐照终端的样品盘上, 一个样品盘可载 10 个培养皿依次照射, 照射时剂量率保持在 3 Gy/min 左右。 γ 射线辐照在兰州医学院第一附属医院放疗科的 ^{60}Co 源上进行, 剂量率约为 0.7 Gy/min。

1.3 照射后细胞处理

辐照后的细胞用胰酶消化, 取少量样品计数稀释到适宜浓度, 接种到培养皿 ($\phi 60\text{mm}$) 中, 每皿加 4 mL 培养液于 CO_2 培养箱中培养 8 d, 取出, 用卡诺液固定, Gimsa 染色, 统计大于 50 个细胞形成的集落数 (克隆形成法), 每个样品 4 皿重复。

1.4 失活截面及相对生物学效应的获得

以下式拟合不同 LET 碳离子辐照 V79 细胞的存活实验数据, 失活截面 σ 即为存活曲线的斜率

$$\text{SF}(\Phi) = e^{-\sigma\Phi} \quad (1)$$

式中, SF 是通量为 Φ 碳离子辐照时的存活率, 失活截面 σ 通过半对数坐标系的线性拟合得到。

γ 射线辐照 V79 细胞的存活数据以下式进行拟合

$$\text{SF}(D) = 1 - (1 - e^{-D/D_0})^m \quad (2)$$

式中, D 为照射剂量, D_0 和 m 为所需的拟合参数。将碳离子辐照时的存活率 SF 与通量 Φ 的关系以下式转换为存活率 SF 与剂量 D 之间的关系, 就可确定不同存活水平下的相对生物学效应 (RBE)

$$D(\text{Gy}) = 1.6 \times 10^{-9} \text{LET}(\text{keV}/\mu\text{m}) \Phi(1/\text{cm}^2) / \rho(\text{g}/\text{cm}^3) \quad (3)$$

式中, ρ 为受照射样品的密度, 对于本实验中的细胞样品取 $\rho = 1.0 \text{g}/\text{cm}^3$ 。

2 结果与讨论

碳离子的物理特性与 V79 细胞的失活截面及 10%、20%、50% 和 80% 存活水平下的相对生物学效应如表 1 所示。图 1 是包括参考辐射 γ 射线在内的 V79 细胞辐照致死效应的实验测量结果和拟合曲线。 γ 射线的 V79 细胞存活曲线显示出明显的肩区, 多靶模型的拟合参数值为: $D_0 = 2.94 \pm 0.68$, $m = 2.02 \pm 0.72$ 。将 V79 细胞受碳离子辐照剂量存活响应转换成通量存活响应后的结果如图 2 所示。该存活曲线的斜率为 V79 细胞的失活截面, 失活截面与 LET 的关系曲线如图 3 所示。一般认为, V79 细胞的辐射敏感部位细胞核的截面积约为 $100 \sim 110 \mu\text{m}^2$ [2,3], 由表 1 及图 3 可以看到, 3 种 LET 碳离子辐照下 V79 细胞的失活截面小于核截面。提示我们一个碳离子贯穿细胞核, 并不一定导致该细胞的死亡, 对失活截面最大的 700 keV/ μm 碳离子贯穿细胞核, 导致 V79 细胞死亡的几率只有 29%~32%; 另外 Scholz 等 [6] 计算的 V79 细胞失活截面显然全面大于我们的测量截面值, 这可能是 Scholz 等在计算时对 V79 细胞核形状及截面过分简化的假设以及受照细胞均处在同一时相的假设等因素有关, 而在本次实验中受照射的 V79 细胞处在细胞周期的各个时相, 因而它们的核截面大小也不一, 故给出的 V79 细胞失活截面是细胞生活状态下对碳离子照射的平均反映。应当指出, 对于 LET 为 700 keV/ μm 能

量为 0.86MeV/u 的碳离子，它在水中的射程约为 15 μm 左右，而哺乳动物细胞的直径大都约为 10 μm 左右，因而碳离子贯穿细胞期间 LET 有很大的变化，所以 700keV/ μm 碳离子的失活截面数值有很大的不确定度。

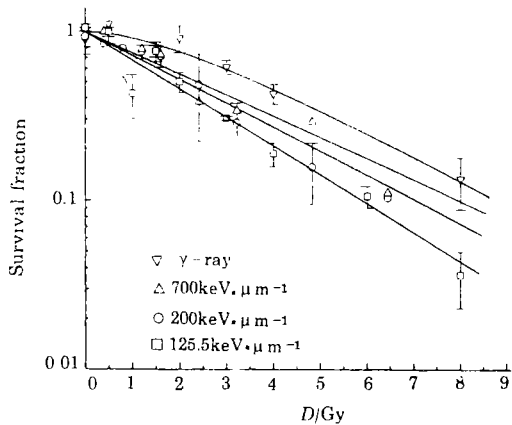


Fig.1 The survival fraction of V79 cells exposed to carbon ions and reference irradiation as the function of dose

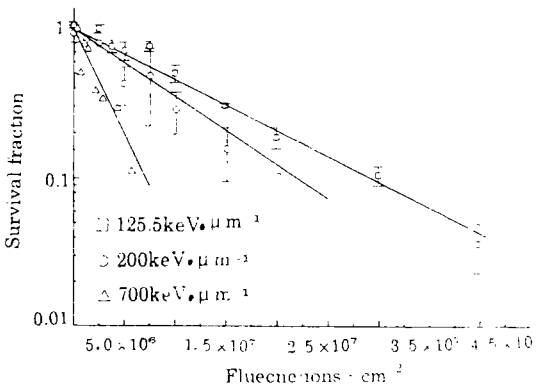


Fig.2 The survival fraction of V79 cells exposed to carbon ions and reference irradiation as the function of fluence

Tab.1 Physical parameters of carbon ions and exposed biological responses of V79 cells

Energy /MeV·u ⁻¹	LET ⁽¹⁾ /keV·m ⁻¹	Penumbra radius r _p ⁽²⁾ /μm	Inactivation cross section σ/μm ²	RBE(survival)			
				10%	20%	50%	80%
14.54	125.5	6.87	7.86±0.17	1.50	1.60	2.02	3.17
8.18	200	3.16	10.44±1.11	1.25	1.34	1.69	2.52
0.86	700	0.09	32.32±3.58	1.11	1.19	1.53	2.16

⁽¹⁾LET was calculated by TRIM91 code^[4]. ⁽²⁾penumbra radius was obtained with the method in Ref.[5]

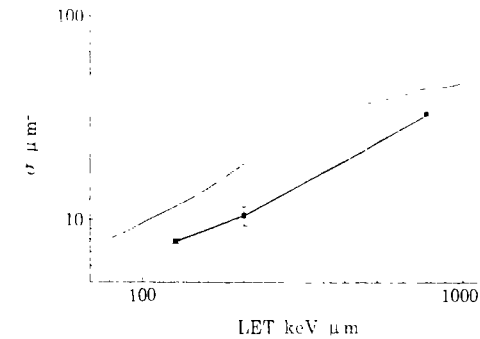


Fig.3 The relationship between inactivation cross section and LET for V79 cells exposed to carbon ions, solid line is the calculation of scholz et al. symols are the measured data

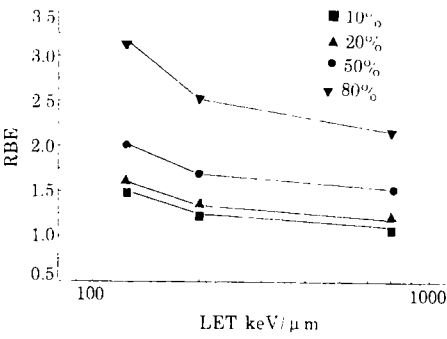


Fig.4 The relationship between RBE at different survival level and LET for V79 cells exposed to carbon ions

由表 1 和图 4 可以看到, 10%、20%、50% 和 80% 存活水平下的 RBE 值均为 $125.5 \text{ keV}/\mu\text{m}$ 碳离子的最大, 说明以存活为生物学终点的碳离子辐照相对生物学效应最大出现在 $200 \text{ keV}/\mu\text{m}$ 以下, LET 超过此值后, “超杀”效应 (overkill) 就会出现, 导致辐射产生生物效应的效率下降。就同一 LET 值的碳离子辐照而言, 存活水平越高, RBE 值就越大, 如 $125.5 \text{ keV}/\mu\text{m}$ 碳离子辐照在 10% 存活水平时, RBE 值仅为 1.50, 而当存活水平上升至 80% 时, RBE 达到 3.17。这些都是因为 γ 射线存活曲线存在明显的修复肩区而碳离子辐照存活曲线呈指数衰减造成的。显然我们对仓鼠 V79 细胞受加速碳离子辐照致死效应的实验研究有助于现有重离子辐射生物物理模型的检验与发展, 并为全面解释重离子生物学效应与重离子物理参数的关系奠定了基础。

致谢: 感谢 HIRFL 全体运行人员为本次实验提供了碳离子束。

参 考 文 献

- 1 Zhao D H, Liang C Q. *Int Med Dev (in Chinese)*, 1996, 2:48-50
- 2 Stoll U, Schmidt A, Schneider E *et al.* *Radiat Res*, 1995, 142:288-294
- 3 Kraft G. *Nucl Sci Appl*, 1987, 3:1-28
- 4 Ziegler J. The Transport of Ions in Matter, IBM-research 28-0, Sept.15, 1992, 1-23
- 5 Li Q, Wei Z Q. *Nucl Instr Meth*, 1997, 122B:657-662
- 6 Scholz M, Kraft G. *Adv Space Res*, 1996, 18:5-14

KILLING EFFECT OF CHINESE HAMSTER V79 CELLS EXPOSED TO ACCELERATED CARBON IONS*

LI Qiang ZHOU Guangming WANG Jufang LI Wenjian WEI Zengquan

(*Institute of Modern Physics, the Chinese Academy of Sciences, Lanzhou730000*)

ABSTRACT Survival curves of Chinese hamster V79 cells exposed to accelerated carbon ions with linear energy transfers (LET) of 125.5, 200 and $700 \text{ keV}/\mu\text{m}$ were measured, respectively. Inactivation cross sections corresponding to the irradiation above were deduced from the survival curves of exposed V79 cells. They are 7.86 ± 0.17 , 10.44 ± 1.11 and $32.32 \pm 3.58 \mu\text{m}^2$, respectively in turn. With the survival response of V79 cells to ^{60}Co γ rays as a reference value, relatively biological effectiveness (RBE) at 10%, 20%, 50% and 80% survival levels were given for the carbon ions. The results show that carbon ions with LET of $125.5 \text{ keV}/\mu\text{m}$ have higher values of RBE at any survival levels than others. It prompted that the maximum value of RBE for V79 cell surviving as the biological endpoint appears at the LET below $200 \text{ keV}/\mu\text{m}$ for carbon ions.

KEYWORDS Carbon ions, V79 cells, Inactivation cross section, Relatively biological effectiveness

CLC Q691, R730

*Jointly supported by the National Climbing Plan (B) (85-45-01-3) and the Natural Science Foundation of Gansu Province (A57)