

非硝基化合物 S-8712 对离体培养细胞 放射增敏作用研究*

糜福顺 李 政 沈 瑜

(中国医学科学院肿瘤研究所, 北京)

胡 璧 王荣先 李美佳 放培基

(中国医学科学院放射医学研究所, 天津)

摘要 以离体培养 HeLa 细胞存活曲线研究了 S-8712 对乏氧细胞放射增敏效果。实验结果表明浓度为 2 mmol/L 时, 以 D_0 和 D_{01} 分别计算所得增敏比(SER)为 1.04 和 1.26。6 mmol/L 的 SER 则分别为 1.35 和 1.25。该化合物对有氧细胞的亚致死损伤修复有抑制作用, 但对有氧细胞放射敏感性没有影响。

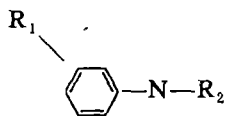
关键词 S-8712, 乏氧细胞, 放射增敏作用

Miso 已被公认为乏氧细胞有效增敏剂, 但由于对中枢及外周神经毒性较大, 致使临床应用受到极大的限制^[1,2]。因此, 肿瘤放射生物学及药理学工作者一直试图研制出新的、高效低毒的乏氧细胞增敏剂^[3], 前者以 RSU-1069 为代表^[4], 后者则以 SR-2508 为代表^[5], 也有很多学者企图摆脱硝基化合物来达到上述目的^[6]。本文报道非硝基化合物 S-8712 对乏氧细胞放射增敏的研究结果, 并与相应浓度的 Miso 的效果相比较。此外, 还测定了该化合物在有氧条件下, 照射细胞的增敏作用。

材 料 与 方 法

1. 化合物

S-8712 系非硝基亚胺类化合物, 白色粉末, 易溶于水, 物化性质稳定, 分子量为 496.35, 分子结构式如下:



2. 离体培养细胞实验系统

试验选用单层贴壁 HeLa-S₃ 细胞株, 研究乏氧状态下 S-8712 的放射增敏效果。细胞培养及实验所用培养基, 为含 20—30% 小牛血清(天津生化制品厂)的 RPMI-1640 (日本, 日水) 培养液。实验方法与前文相同^[7], 实验分为有氧照射、乏氧照射和加药乏氧照射三组。用对数生长期细胞, 加入不同浓度的化合物, 在乏氧条件下 (99.999% N₂, 20 min) 作用 2 h 后进行照射。照后立即用 Hanks' 液洗去 S-8712, 以 0.25% 胰酶和 0.02% EDTA (1:1) 混合液消化, 制备成单细胞悬液。按实验设计接种适当数量的细胞于 60 mm 平皿内, 置 37℃ CO₂ 培养箱培养 14 d。然后, 甲醇固定。

* “七五”医学国家重点科技攻关项目

Giemsa 液染色, 用克隆计数分析仪作克隆计数, 经 if-800 微机作“多靶单击模型”拟合分析^[8]。所有细胞存活曲线参数均为三次重复实验拟合结果。

3. 照射条件

离体实验细胞均在室温下用飞利浦 SL-75-10 直线加速器 8 MV X 线进行照射, FSD 100 cm, 照射野为 $10 \times 10 \text{ cm}^2$, 剂量率为 $4.2 \sim 4.7 \text{ Gy/min}$ 。

4. 离体毒性试验

采用体外克隆形成试验, 测定 S-8712 在有氧和乏氧条件下的细胞毒性, 以 ID_{50} 即抑制 50% 克隆形成所需要的化合物剂量来表示。

结 果 与 讨 论

1. S-8712 的毒性

图 1 表示 S-8712 在有氧及乏氧条件下对细胞存活率的影响, 它们的 ID_{50} 分别为 7.7 mmol/L 和 6.2 mmol/L 。这一结果提示, 该化合物在乏氧状态下的细胞毒性比有氧状态下的毒性稍高, 对提高放射杀伤肿瘤乏氧细胞也许是一种潜在的优势。

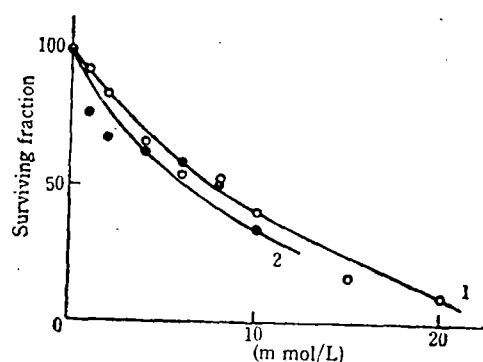


Fig 1. Cytotoxicity of S-8712 on aerobic and hypoxic HeLa-S₃ cells
(1): Aerobic (2): Hypoxic

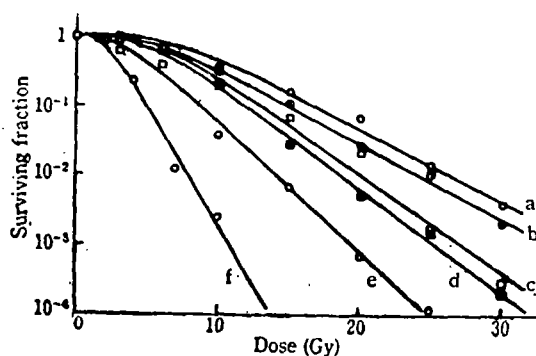


Fig 2. Effect of S-8712 and Miso on hypoxic irradiated HeLa-S₃ cells
(a): N₂, (b): S-8712-N₂ (2 mmol/L), (c): S-8712-N₂ (6 mmol/L), (d): Miso-N₂ (2 mmol/L), (e): Miso-N₂ (6 mmol/L), (f): O₂

Tab 1. The parameters of survival curve of HeLa-S₃ after radiation

化 合 物	D_0 ($\times 10^{-2} \text{ Gy}$)	D_q ($\times 10^{-2} \text{ Gy}$)	N
O ₂	125.88	210.31	5.32
N ₂	421.29	728.95	5.64
S-8712 (2 mmol/L)	405.08	576.99	4.16
(6 mmol/L)	312.39	582.11	6.45
Miso (2 mmol/L)	306.31	393.11	3.61
(6 mmol/L)	234.94	326.10	4.01

2. S-8712 的放射增敏效果

图 2 表示 2 mmol/L 和 6 mmol/L S-8712 及 Miso 的细胞存活曲线。

按照“多靶单击击中模型”拟合分析所得各项参数列于表 1。

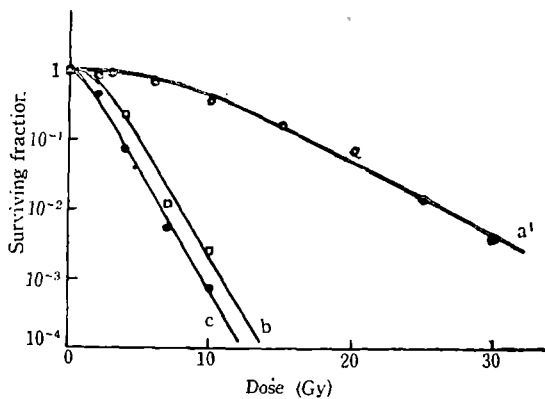


Fig 3. Effect of S-8712 on aerobic irradiated HeLa-S₃ cells

(a): N₂, (b): O₂, (c): S-8712-O₂ (6 m mol/L)

根据 D_0 , D_q 比计算, 该实验系统的氧增比 (oxygen enhancement ratio, OER) 分别为 3.35 和 3.47。当浓度为 2 m mol/L 时, S-8712 的乏氧细胞增敏比为 1.04 (D_0 比) 和 1.26 (D_q 比)。明显低于 Miso 的增敏效果 (1.38, 1.85)。浓度为 6 m mol/L 时, 其 SER 分别为 1.35 和 1.25, 而相应浓度 Miso 的放射增敏比都达到 1.79 和 2.24。可以看到当 S-8712 浓度增加时主要引起 D_0 值的变化, 而 D_q 值几乎不变。说明浓度的增加引起细胞致死性损伤的增加, 其中部分可能是 S-8712 细胞毒性的贡献。根据上述两个浓度的 SER (D_0 比) 外推, 得到 S-8712 的 $C_{1.0}$ 为 9.4 m mol/L, 而 Miso 的 $C_{1.0}$ 为 4.1 m mol/L。从许多研究报道来看, 增敏效果与细胞毒性难以分开, 即增敏效果提高了。毒性也随之上升, 若药物毒性下降, 增敏效果往往也随之降低。非硝基化合物也许能把神经毒性降下来, 但能否保持高的增敏效果还是一个问题。S-8712 无论是低浓度还是高浓度, 其增敏效果都不及 Miso。文献报道该类化合物对受 ^{60}Co γ 射线全身照射的昆明小鼠有明显的放射防护作用^[9,10]。但是, 该化合物对有氧细胞的放射增敏实验结果表明, 6 m mol/L 的 S-8712 没有显示防护作用, 其 D_0 值为 124.27×10^{-2} Gy, 与单纯有氧照射没有区别。然而, D_q 值明显变小, 仅为 86.6 cGy。这表明在有氧条件下, 对细胞亚致死损伤修复有明显的抑制作用 (见图 3)。这种体内外效应的差别可能与药代动力学不同有关。根据上述试验结果可以认为该化合物有一定的增敏效果, 在有氧和乏氧条件下, 存活曲线 D_q 值变化明显, 说明对细胞亚致死损伤修复有抑制作用。对实体瘤及正常组织是放射增敏还是防护有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] J. F. Fowler, Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 11(4), 665 (1985).
- [2] S. Dische, Radiother. Oncol., 3(2), 97 (1985).
- [3] 罗祖玉, 国外医学, 放射医学与核医学分册, 12(4), 216 (1988).
- [4] G. E. Adams, I. Ahmed, P. W. Sheldon and I. J. Stratford, Brit. J. Cancer, 49, 571 (1984).
- [5] J. M. Brown, N. Y. Yu, D. M. Brown and W. W. Lee, Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 7 (6), 695 (1981).
- [6] M. A. Shenoy, B. B. Siagh, Int. J. Radiat. Biol., 48(3), 315 (1985).
- [7] 糜福顺, 李 政, 沈 瑜, 中国放射肿瘤学 3(2), 101 (1989).
- [8] 汪 俊, 沈 瑜, 糜福顺, 中华放射医学与防护杂志, 8 (2), 117 (1988).
- [9] 李淑珍, 张荷清, 张安琴, 黄光信, 吴德光, 李 玫, 李惠英, 胡 璧, 中华放射医学与防护杂志, 4 (6), 61 (1984).
- [10] 胡 璧, 李淑珍, 钟三保, 李惠英, 吴德光, 中华放射医学与防护杂志, 8(1), 47 (1988).

(稿件收到日期: 1989 年 2 月 13 日)

(下接封四)

(上接第 124 页)

STUDIES ON RADIOSENSITIZING EFFECT OF NON-NITRO COMPOUND S-8712 IN VITRO

Mi Fushun, Li Zheng and Shen yu

(Cancer Institute (Hospital), Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing)

Hu Bi, Wang Rongxian, Li Meijia and Shi Peiji

(Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjing,)

ABSTRACT The radiosensitizing effect of non-nitro compound S-8712 on HeLa-S₃ cell line was investigated, using cell colony forming assay in vitro. When the concentration of compound was 2 mmol/L, sensitizer enhancement ratio (SER) of hypoxic cells calculated according to the ratio of D₀ and D_q was 1.04 and 1.26. When the concentration of S-8712 raised to 6 mmol/L SER was 1.35 and 1.25 respectively. It showed that the radiosensitizing effect of S-8712 was less then MISO at same concentratron. The effect of S-8712 was also observed on oxic HeLa-S₃ cells. This compound demonstrated marked inhibition on repair of sublethal damage for aerobic cells.

KEY WORDS Non-Nitro Compound, Hypoxic cell, Radiosensitizing effect

辐 射 研 究 与 辐 射 工 艺 学 报

第 8 卷第 2 期

JOURNAL OF RADIATION RESEARCH AND RADIATION PROCESSING

Vol. 8 No. 2

报刊登记证: 国内统一刊号: CN 31-1258

主 编: 林念芸

订 阅 处: 全国各地邮局

发 行 单 位: 上海市报刊发行处

国内代号: 4-403

主办单位: 中国科学院上海原子核研究所(上海 800-204 信箱)

出版单位: 上海科学技术出版社(上海瑞金二路 450 号)

印刷单位: 中国科学院上海分院印刷所(上海漕溪路 150 弄 2 号)

发行范围: 国内外公开发行

编 辑: “辐射研究与辐射工艺学报”编委会

上海市 800-204 信箱 (邮政编码 201800)

国内邮发代号: 4-403

定价: 1.50 元

出版日期: 1990 年 5 月