

文章编号: 1001-098X(2002)06-0275-03

重离子辐射生物效应的实验研究

雷苏文

摘要: 重离子以其特有的生物物理特性近年来引起肿瘤放疗领域的普遍关注。哺乳动物细胞体外辐射生物效应研究为重离子肿瘤放疗最优化提供了科学依据。这方面研究主要包括克隆细胞存活、细胞染色体畸变和细胞DNA损伤等。

关键词: 重离子辐射; 细胞存活; 染色体损伤; DNA双链断裂

中图分类号: Q691.5, R817.5 **文献标识码:** A

The experimental study on biological effects of heavy ion radiation

LEI Su-wen

(National Institute for Radiological Protection and Nuclear Safety, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100088, China)

Abstract: It is the hot topic to the heavy ion for its special biophysical characteristics in the tumor radiotherapy in recent years. The experimental studies on biological effects of cultured mammalian cells of heavy ion radiation provide scientific foundation for the optimization of heavy-ion radiotherapy. These researches mainly include: clonogenic cell survival, chromosome damages and double-strand breaks of DNA.

Key words: Heavy ion radiation; cell survival; chromosome damage; DNA double-strand breaks

重离子物理学特征主要表现在:(1)有明确的射程,射程歧离和横向散射小;(2)剂量-深度分布具有Bragg峰,其宽度可通过能量变化进行调节;(3)重离子带电,可利用磁铁扫描系统做精确的三维扫描。这些特征在临床肿瘤放疗中提高放疗效果、减少正常组织损伤、增加放疗适应证等方面有不可代替的优势。因此,目前认为重离子束治癌代表着肿瘤适形精确放疗的发展趋势。研究表明,重离子比X、 γ 射线有更强的细胞杀死效应,同时也带来更大的畸变危险。研究不同细胞对不同离子、不同能量、不同剂量率、不同照射方式的辐射敏感性及其机制具有重要意义。

1 细胞存活

目前对细胞存活的研究结果表明,重离子表现为无肩区的存活曲线, γ 射线或X射线表现为小剂量

有肩区曲线。随着LET(传能线密度)的增加,细胞失活效应在增加,在125keV/ μm 左右达到最大值,如果LET值进一步增大,失活效应反而降低。例如,35、70、125 keV/ μm 碳离子引起的人肝癌SMMC7721细胞失活效应依次增加,而125、200、700 keV/ μm 碳离子引起的中国仓鼠V79细胞失活效应依次降低。这主要是因为电离事件的饱和机制。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,而产生超杀效应(overkill effect),造成能量的过剩;如果LET继续增大,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。

RBE(相对生物效应)是一个与LET有密切关系的参数,不同细胞的RBE从1.10至3.02不等^[1]。不同离子的RBE也不同;相同细胞、相同离子不同LET时,其RBE也不同,例如76 keV/ μm 碳离子的RBE为2.74,而13.3keV/ μm 碳离子的RBE为1.30^[2]。在多种靶细胞不同离子LET值为125 keV/ μm 时得到存活效应最大的RBE值。这些重离子照射对细胞存活影响的基础研究,为重离子放疗最优化提供了直接的

收稿日期: 2002-08-20

作者简介: 雷苏文(1968-),男,陕西蒲城人,中国疾病预防控制中心中心辐射防护与核安全医学所(北京,100088)助理研究员,硕士研究生,主要从事放射生物学研究。

审校者: 中国疾病预防控制中心辐射防护与核安全医学所 苏旭

实验数据。

2 染色体损伤

重离子对哺乳动物细胞的染色体损伤研究主要是以染色体畸变为生物终点,多是比较不同辐射类型对同一细胞系的染色体损伤。不同细胞染色体损伤修复的时间不同,但损伤修复大部分在24 h内完成。PCC(染色体早熟凝集)方法观察指标为:双着丝粒、无着丝粒断片、PCC环、异位、插入等。

用PCC方法研究重离子细胞生物学效应多与细胞存活效应相比较。细胞存活实验研究得到最大生物效应的重离子LET范围为100~200 keV/ μm ^[3]。Suzuki M等^[2]用相同的细胞系,8个不同LET碳离子照射,观察了细胞死亡和非重接染色体断片,结果表明,非重接染色体断片最大生物效应的LET范围为100~120 keV/ μm 。用不同LET氦离子照射^[4],得到的RBE-LET曲线结果表明,细胞死亡和非重接染色体断片的最大生物效应LET接近100 keV/ μm 。RBE随LET的增加逐渐下降,大于300 keV/ μm 时,快速降低。不同重离子得到最大生物效应的LET不同,如氦离子最大生物效应的LET比碳离子大。这种因LET不同而生物效应不同的机制尚不清楚,但有研究认为,用 Z^2/β^2 (Z为有效电量, β 为离子相对于光子的速度)比值描述RBE-LET的关系比LET更适合。Suzuki M等^[2]的研究表明,以非重接染色体断片为生物终点得到的RBE比以细胞死亡为生物终点得到的RBE大。相同LET下,非重接染色体断片对细胞死亡的RBE分别为1.04(63 keV/ μm)、1.91~2.10(100~300 keV/ μm)和1.48(335~340 keV/ μm)。这些数据说明,在LET为100~300 keV/ μm 范围内,每细胞、每Gy剂量引起半数非重接染色体断片足以导致细胞死亡。研究者的解释是:①100~300 keV/ μm 离子束产生的损伤集中在细胞或细胞核区域;②研究中使用的细胞可以在一个细胞中有10个非重接断片时仍然存活,而这一点使得染色体断点出现的位置显得非常重要。研究者认为,要定性或定量描述细胞死亡与非重接性染色体断裂间的关系,则需要研究得到不同辐射类型在引起损伤时损伤部位的不同,以及什么样的染色体断片才能导致细胞死亡。

目前,许多研究重点在于辐射引起染色体损伤的修复动力学。重离子引起断片的最大重接率是依

LET不同而不同的。低LET辐射引起人或啮齿动物细胞的染色体断片超过85%得到重接^[4]。用不同LET的重离子,即0.56 keV/ μm 的氦离子、13.7 keV/ μm 的碳离子、115 keV/ μm 的氩离子和183 keV/ μm 的氟离子分别照射中国仓鼠卵巢细胞,结果表明,辐射引起的超额染色体断片明显因LET的不同而不同。氦离子引起的断片大约90%得到了重接,而氟离子引起的断片仅50%得到了重接。Durante M等^[5]用相对较重的140 keV/ μm 铁离子照射人淋巴细胞,用FISH(荧光原位杂交)技术分析,4号染色体在照后10h 50%的染色体断片得到重接。Suzuki M等^[6]的研究中, γ 射线引起的染色体断片重接很快,半数重接时间约30 min;而且,大约85%的断片在照后24 h重接。但是,同一研究中,重离子铁引起的断片最大重接为36.8%,比相对轻的离子引起断片重接率低。研究者认为,这种效应的不同是由不同离子束其核心区及投影区的不同而引起。铁离子可能比相同LET的较轻一些的离子在局部沉积更多的能量,因此,铁离子能引起更严重的串型染色体损伤。

3 DNA的DSB(双链断裂)

研究表明,X射线照射随着深度的增加,由其引起的DNA损伤在连续减少;而重离子束的DNA损伤随深度增加而稳定增加,在其Bragg峰区达到明显的最高值,Bragg峰后DNA损伤程度显著下降^[7]。对重离子辐射生物效应机制的研究,热点多在研究重离子引起不同哺乳动物细胞DNA的DSB上。

目前,常规方法研究辐射类型与DSB产额间关系,其结果是让人们难以琢磨的^[8]。如LET为100 keV/ μm 的高LET辐射在以DSB的产额为生物终点时,其RBE变化总在1左右(0.5~1.6)。但是,同样条件下,以细胞杀死效应、突变和细胞转化为生物终点的RBE分别为3.5~4、6~12和10左右。1981年Frankenberg D等首次论证了这种DSB产额和细胞效应在RBE上的差别是由DSB不同修复能力所造成的。PFGE(脉冲场凝胶电泳)技术结合放免的FAR(活性释放份额)分析技术以及DNA的溴乙锭染色技术,是目前研究重离子DSB多用的方法。FAR分析的一个主要不足是其断片分布是随机的假设,而事实上,研究表明,对重离子等致密电离辐射,断片分布并不是随机的。随机分布的假设对于大断片

(Mbp以上)是适合的,而小断片由于离子的径迹结构以及染色体的构成不同而并不随机。在效应上,FAR方法的分析可能低估了重离子诱发的DSB,因为,随机分布的假设低估了小断片的份额^[6]。这就是为什么目前有关DNA的DSB研究集中于全断片测量,而且,全断片测量能够确定断片的集中部分。在断片分析中,标准大小DNA的应用是断片分析的基础,其与传统FAR分析的主要区别是DNA被分到了2~4个不同的胶上,而FAR分析是在一个胶上完成的。通过这种方法,所有密集的带被扩展,小于

10 kbp到6 Mbp的断片得到了有效的分离,从而定量分析断片随机分布中的可能变化(即非随机分布)。断片分析技术应用于研究重离子的DSB结果表明,随着LET的增加,RBE在增加。表1列出了三种重离子照射细胞后用PFGE方法得到的RBE。这与用传统方法得到的结果,即随着LET的增加,RBE总在1左右形成对照。这同时证明了,重离子辐射生物效应中与径迹结构的相关性,与DNA的串型损伤以及细胞中染色体空间结构的相关性^[6]。

表1 三种重离子照射细胞后用PFGE方法得到的RBE(断片分析)

重离子	细胞系	LET(keV/μm)	对照(kV)	DSB产额(10 ⁶ bp·Gy) ⁻¹		RBE	作者
				重离子	X-ray对照		
N	GM38	97	150	12.0	10.7	1.1	Lobrich,1996
He	V79-379A	110	250	11.3	8.9	1.3	Newman,1997
Fe	GM38	150	150	18.9	10.7	1.8	Lobrich,1996

断片分析技术比FAR及其他类似技术在研究辐射诱发DSB中有更明显的优势,它不仅能够得到准确的断片发生率以及相应的RBE,而且能够给出断片随DNA分子大小分布的信息。因为,这种断片分布与DNA结构相关,断片可能反映了活细胞中染色体如何排列等信息;另外,断片分析技术应用于DSB修复机制的研究,可望解释重离子显著诱发非随机的DSB结果。但是,由于断片分析方法中要分析小的DNA断片,因此这种方法是很不敏感的,其往往需要比常规生物效应研究中高得多的剂量^[6]。

总之,重离子以其独特的生物物理特性,已经引起各国学者的普遍关注。重离子辐射生物效应及其机理的研究,必将推动其在肿瘤放疗领域的应用。

参考文献:

[1] Suzuki M, Kase Y, Kanai T, et al. Correlation between cell killing and residual chromatin breaks measured by PCC in six human cell lines irradiated with different radiation types [J]. *Int J Radiat Biol*, 2000, 76(9): 1189-1196.
 [2] Suzuki M, Kase Y, Nakano T, et al. Residual chromatin breaks as biodosimetry for cell killing by carbon ions [J].

Adv Space Res, 1998, 22(12): 1663-1671.
 [3] Suzuki M, Kase Y, Kanai T, et al. LET dependence of cell death and chromatin-break induction in normal human cells irradiated by neon-ion beams [J]. *Int J Radiat Biol*, 1997, 72(5): 497-503.
 [4] Suzuki M, Watanabe M, Suzuki K, et al. Heavy-ion induced chromosome breakage studied by premature chromosome condensation(PCC) in syrian hamster embryo cells[J]. *Int J Radiat Biol*, 1992, 62: 581-586.
 [5] Durante M, Furusawa Y, George K, et al. Rejoining and misrejoining of radiation-induced chromatin breaks IV. charged particles[J]. *Radiat Res*, 1998, 149: 446-454.
 [6] Suzuki M, Piao CQ, Hall EJ, et al. Cell killing and chromatid damage in primary human bronchial epithelial cells irradiated with accelerated ⁵⁶Fe ions[J]. *Radiat Res*, 2001, 155: 432-439.
 [7] Heilmann I, Taucher-Schol G, Haberer T, et al. Measurement of intracellular DNA double-strand break induction and rejoining along the track of carbon and neon particles beams in water[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1996, 34(3): 599-608.
 [8] Prise KM, Ahnstrom G, Belli M, et al. A review of dsb induction for varying quality radiations[J]. *Int J Radiat Biol*, 1998, 72(2): 173-184.