

文章编号: 1007-4627(2006)01-0040-03

$^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照人胃癌细胞系 BGC823 的氧效应研究*

荆西刚^{1,2}, 李文建¹, 杨建设¹, 郭传玲^{1,2},

褚巍³, 金晓东¹, 王菊芳¹, 周立斌^{1,2}

(1 中国科学院近代物理研究所, 甘肃 兰州 730000;

2 中国科学院研究生院, 北京 100049;

3 西北大学生命科学学院, 陕西 西安 710069)

摘要: 以体外培养的人类胃癌细胞系 BGC823 为材料, 用兰州重离子加速器提供的能量为 20 MeV/u 的 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子, 分别在富氧(95% O_2 + 5% CO_2)和自然条件下辐照细胞, 测得这种离子的氧增比近似为 1, 说明在中等能量区 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子有很低的氧效应。

关键词: 氧效应; 碳离子; 人胃癌细胞系 BGC823; 兰州重离子加速器

中图分类号: TL99 **文献标识码:** A

1 引言

随着放射治疗越来越多地被应用于肿瘤治疗, 资料表明大部分肿瘤中存在着乏氧区, 成为放射治疗失败的原因之一, 这是由于 X 射线和 γ 射线等的传能线密度 (LET) 很低对乏氧细胞作用不大造成的^[1]。人们试图从不同的途径通过增加肿瘤中氧浓度来提高肿瘤的放疗效果, 但是这不仅在技术上面临很大的困难, 而且也往往不同程度地增加了正常组织的损伤程度。应用重离子束进行放射治疗有两个最大的优势: (1) 由于小的横向散射, 并且在有限的离子射程末端有一个布拉格峰 (Bragg Peak), 重离子束在靶区上有很高的剂量分布; (2) 在布拉格峰区具有高 LET 和高相对生物学效应 (RBE)^[2]。这些特性被认为是比 X 射线和 γ 射线有更好治疗效果的原因, 尤其是重离子具有很低的氧增比 (OER), 使其对乏氧细胞有更大的杀伤力^[3]。美国、德国和日本已经将重离子应用于临床治疗, 积累了大量的基础数据, 由于离子的 LET 不同, 得到的 OER 值为 1.2—2.8^[4]。我国也开展了重离子治疗癌症的研究工作, 对重离子氧效应的研究不仅有助于研究重离子辐照损伤机理, 还可以为今后的治疗工作提供基础数据。

2 材料和方法

由兰州重离子加速器 (HIRFL) 实验终端引出的初始能量为 80.55 MeV/u 的 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子, 经厚度为 13.58 mm 的 Lucite ($\rho = 1.2 \text{ g/cm}^3$) 降能, 使 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束达到细胞表面时能量降为 20 MeV/u, LET 值为 96.05 keV/ μm 。

人胃癌细胞系 BGC823 由中国典型培养物保藏中心 (CCTCC) 提供。在 5% CO_2 , 37 °C 环境下培养于含有 10% 胎牛血清 (FCS) 的 RMPI-1640 培养基 (Sigma 公司) 中, 2—3 d 传一代。辐照前 1 d 将细胞接种于一次性培养皿 ($\phi 30 \text{ mm}$) 中, 辐照前倒掉培养基。富氧条件是在照射前使样品盘通入预先配制好的气体 (95% O_2 + 5% CO_2) 5—10 min, 照射时保持通气状态; 自然条件下的样品为对照。实验用样品盘中空密封, 配制好的气体通过软管进入样品盘由另一端流出, 保证样品盘内充满预制气体。实验终端照射野为 $\phi 40 \text{ mm}$, $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子经过 Lucite 降能后照射到贴壁靶细胞上 (见图 1)。照射剂量为: 0, 0.5, 1, 2, 4, 6 和 8 Gy。照射后的细胞用胰蛋白酶 (Trypsinase) 消化下来, 以不同的浓度接种于培养皿中, 在 5% CO_2 的 37 °C 培养箱中培养 12 d, 以形成克隆。磷酸盐缓冲液 (PBS) 冲洗, 卡诺氏液

收稿日期: 2005-09-14; 修改日期: 2005-11-16

* 基金项目: 国家自然科学基金重点基金资助项目 (10335050); 科技部重大基础研究前期研究专项基金资助项目 (2003CCB00200)
作者简介: 荆西刚 (1982—), 男 (汉族), 陕西西安人, 硕士, 从事放射生物学研究; E-mail: jingxigang@impcas.ac.cn

固定，Giemsa 染液染色，计数大于 50 个细胞形成的集落数。

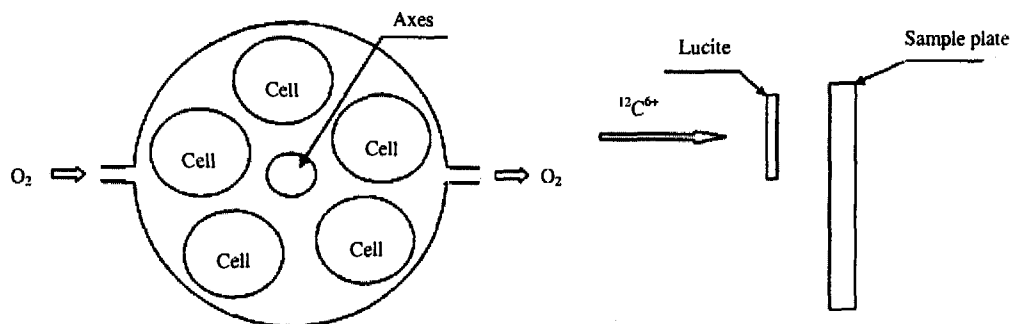


图 1 实验终端示意图

3 结果与讨论

线性平方模型 $S = \exp(-\alpha D - \beta D^2)$ 是经典的射线辐照细胞后细胞存活曲线的拟合方程。本次实验结果用该方程拟合后得到了 BGC823 细胞在不同氧状态下经 20 MeV/u 的 ¹²C⁶⁺ 离子辐照后的细胞存活曲线(见图 2)。由图可以看出，存活细胞曲线不存在修复肩区，无论是富氧条件或是非富氧条件都是如此。在以往我们的实验中得到的数据同样表明，经高 LET 的重离子辐照后，细胞的存活与剂量可形成很好的线性关系^[6-8]。

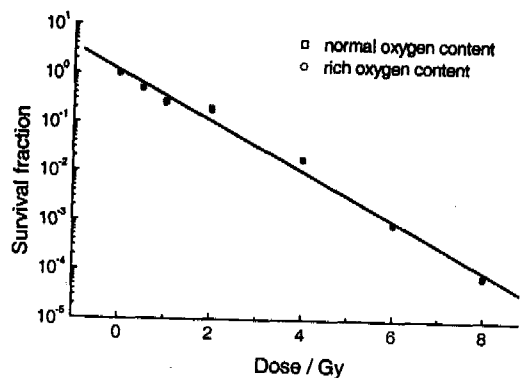


图 2 BGC823 在不同氧状态下经 20 MeV/u ¹²C⁶⁺ 辐照后的存活曲线

实验结果表明，在富氧环境下照射 BGC823 细胞，细胞存活率与非富氧环境下照射相比较没有显著差异，说明 ¹²C⁶⁺ 离子束照射时的氧增比接近于 1，这与重离子的放射生物学效应相一致。

已经有一些文献反映出，OER 为 LET 的函数，随着 LET 值的增加，OER 下降；当 LET 值超过 60 keV/μm 后，OER 下降迅速；当 LET 值接近 200 keV/μm 时，OER 值为 1。本实验 ¹²C⁶⁺ 离子

LET 为 96.05 keV/μm，得到的 OER 值约为 1。重离子辐照氧效应的研究表明，在生物系统中氧含量为 2% 时细胞存活曲线和正常空气条件下几乎没有差别，即使氧含量增加到 100% 时对细胞存活曲线的斜率影响也不大^[9]，本次实验结果也符合此结论。

一般认为细胞致死与不可修复的 DNA 双链断裂(DSBs)直接相关。Kawata 等^[5]的研究表明，经低 LET 射线辐照后，染色体断裂以染色单体断裂为主，而经像重离子这样高 LET 射线照射后染色体断裂多为等点染色单体。我们及其他人的实验(早熟染色体凝集方法对细胞染色体断裂的分析^[5, 6, 8])得出结论，重离子导致的姊妹染色单体的断裂是由一次电离辐射完成的，而低 LET 射线引起姊妹染色单体断裂是由两次独立的电离辐射完成的。本次实验所用 ¹²C⁶⁺ 离子的 Bragg 峰区 LET 值为 96.05 keV/μm 接近于高传能线密度，致使细胞对 DNA 的双链损伤修复能力减小或消失。重离子辐照过程中由于通入高浓度氧而形成的自由基对细胞的伤害，相对于对染色体造成不可逆性损伤要小，因此对细胞存活率的影响很小，得到 OER 值约为 1。由于肿瘤组织中的血管在结构和功能上的多种异常^[11]，使其血管系统对环境中的氧浓度变化的反应从速度上讲比正常组织慢，在幅度上比正常组织小^[12]。在治疗中如果用增加氧分压以提高对肿瘤控制率，对正常组织的防护则变得不利，并且实验已经证明用增加氧分压的办法并不会提高对肿瘤的控制率。总之，选择高 LET 的重离子用于放射治疗能达到更好的治疗效果。

参 考 文 献:

- [1] 夏寿萱主编. 放射生物学. 北京: 军事医学科学出版社, 1998, 12.
- [2] Kraft G, Becher W, Blasche K, *et al.* International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. Part D. Nuclear Tracks and Radiation Measurements, 1991, **19**(1-4): 911.
- [3] 朱壬葆等主编. 辐射生物学. 北京: 高等教育出版社, 1985.
- [4] Raju M R, Amols H I, Bain E, *et al.* Brit J Radiol, 1978, **51**: 712.
- [5] Kawata T, Gotoh E, Durante M, *et al.* Int J Radiat Biol, 2000, **76**: 929.
- [6] Yang Jianshe, Li Wenjian, Jin Xiaodong, *et al.* Correlation between Chromosome Breaks and Radiosensitivity of Human Hepatoma Cells and Normal Liver Cells Exposed to Heavy Ions Measured by Premature Chromosome Condensation Technique. 10th Workshop on Heavy Charged Particles in Biology and Medicine, 2005, **6**(15-19): 32.
- [7] 李文建, 周光明, 卫增泉等. 原子核物理评论, 2003, **20**(1): 42.
- [8] 杨建设, 李文建, 金晓东等. 中国科学 G 辑, 2005, **35**(6): 1.
- [9] Hall E J. Radiobiology for the Radiologist. 4th ed. Philadelphia: Lippincott, 1994, 153.
- [10] Vaupel P, Kallinowki F, Okuneiff P. A Review Canc Res, 1989, **49**: 6 449.
- [11] 于洪, 沈瑜, 王争等. 中华放射肿瘤学杂志, 1997, **6**(2): 103.

Oxygen Effect in $^{12}\text{C}^{6+}$ Irradiation of BGC823 Cells*

JING Xi-gang^{1,2}, LI Wen-jian¹, YANG Jian-she¹, GUO Chuán-ling^{1,2}, CHU Wei³,
JIN Xiao-dong¹, WANG Ju-fang¹, ZHOU Li-bin^{1,2}

(1 Institute Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China;

2 Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

3 Life Science School of Northwest University, Xi'an 710069, China)

Abstract: Gastric tumour BGC823 cells cultured in natural and rich oxygenic(95% O₂+5% CO₂) environment are irradiated with energy of 20 MeV/u $^{12}\text{C}^{6+}$ ions at HIRFL. Average OER \approx 1 is deduced from survival curves for cells in natural and rich oxygenic environment. This relatively low OER value indicates that medium energy carbon ions are suitable for the cancerous therapy.

Key words: oxygen effect; $^{12}\text{C}^{6+}$ ions; BGC823; HIRFL

* **Foundation Item:** National Natural Science Foundation of China(10335050); Dedicated Project of National Key Basic Research of Sciences and Technology Ministry of China(2003CCB00200)