文章编号：1007－4627(2009)03－0259－04

不同 LET 射线对细胞的生物学效应*

荆西刚[1,2]，李文建[1]，杨建设[3]，王转子[1]，魏 巍[1]

(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 西北师范大学生命科学学院，甘肃 兰州 730070)

摘 要：以人肝癌细胞系和正常肝细胞系为材料，报道了不同传能线密度射线辐射引发细胞染色体原初断裂及 24 h 内的修复情况。计算了相对生物学效应的值。以 L02 染色体总断裂数量得出的 RBE 值 96.05 keV/μm 的 $^{12}C^{6+}$ 为 3.6，512 keV/μm $^{36}Ar^{18+}$ 为 2.9。而以 7721 染色体总断裂数量得出的 RBE 值：96.05 keV/μm 的 $^{12}C^{6+}$ 为 3.5，512 keV/μm $^{36}Ar^{18+}$ 也为 2.9。用产生等点染色单体断裂计算，则 RBE 更高。对比得出，高 LET 对增加等点染色单体断裂量的作用要远远大于对增加染色单体断裂量的作用。等点染色单体的断裂修复难度要远远大于染色单体断裂的修复难度，这也是高 LET 高致死率的一个重要原因。

关 键 词：重离子；传能线密度；早熟染色体凝集；相对生物学效应

中图分类号：Q691 **文献标识码**：A

1 引言

目前用于放射治疗癌症的射线有很多种，相对于传统的 X 射线和 γ 射线的低传能线密度(LET)射线，高 LET 射线能够更有效地使细胞染色体产生畸变而死亡[1,2]，拥有高 LET 的重离子在放疗上的应用，越来越多地受到人们的关注。

兰州重离子加速器浅层治癌装置已进入临床试验阶段。为积累基础数据，建立一套肿瘤细胞辐射敏感性的快速预测方法，本文应用早熟染色体凝集(Prematurely Chromosome Condensation，简称 PCC)技术研究了 G_2 期人类正常肝细胞和肝癌细胞系接受 C 离子照射后的染色体断裂[3,4]，计算 C 离子束诱发原初染色体断裂的相对生物学效应(RBE)，并观察了其 24 h 内的染色体修复情况。

2 材料与方法

2.1 细胞的培养与辐照

用于实验的 C 离子束和 Ar 离子束均由中国科学院近代物理研究所兰州重离子研究装置(HIRFL)提供。$^{12}C^{6+}$ 离子束的初始能量为 80.55 MeV/u，经厚度为 13.58 mm 的 Lucite(ρ=1.2 g/cm^3)降能，使 $^{12}C^{6+}$ 离子束达到细胞表面时能量降为 20 MeV/u，LET=96.05 keV/μm。$^{36}Ar^{18+}$ 初始能量为 50 MeV/u，LET=512 keV/μm。γ 射线由兰州大学医学院提供。

人肝癌细胞系(SMMC-7721)和人正常肝细胞(L02)由中国典型培养物保藏中心(CCTCC)提供。在 5% CO_2，37 ℃环境下培养于含有 10%胎牛血清(FCS)的 RMPI-1640 培养基(Sigma)中，在 L02 培养基中加入胰岛素使其浓度达到 0.25 U/ml，2—3 d 传一代。用 3 种不同 LET 的射线照射处于指数生长的细胞，剂量为 4 Gy，剂量率为 1 Gy/min。

2.2 G_2 期 PCC 的制备与观察

Calyculin-A(购自美国 BIOMOL 公司)是一种良好的 PCC 诱导剂[5,6]，将其溶于 100%的乙醇里制成 1 mmol/l 的储存液。照射前将其加入需照射细胞的培养液内，终浓度为 50 nmol/l。细胞经照射后在 37 ℃，5% CO_2 的恒温培养箱内继续培养 30 min。收集细胞，75 mmol/l KCl 低渗处理 20 min，

* **收稿日期**：2009-01-13；**修改日期**：2009-02-24

* **基金项目**：国家自然科学基金资助项目(10875153)；科技部重大基础研究前期研究专项资助项目(2003CCB00200)

作者简介：荆西刚(1982—)，男(汉族)，陕西西安人，博士研究生，从事放射生物学研究；E-mail：jingxigang@impcas.ac.cn

卡诺氏液固定，最后以少量固定液悬浮细胞，滴片，在热蒸汽上烘干，5% Giemsa 染色。按照文献[6]报道的标准，每个剂量点观察不少于 40 个的 G_2 期细胞，求出这些细胞内染色单体和等点染色单体的平均断裂数，即为该剂量点的染色单体和等点染色单体断裂数，每个等点染色单体断裂被计为两个断裂。为了找到哪种 LET 的重离子更适合作放射治疗，我们观察了经重离子辐照后 0.5，1，2，4，12 和 24 h 两种细胞系的染色体修复情况。

3 结果

3.1 两种细胞系辐照后染色体断裂统计及 RBE 值

用 PCC 技术研究了射线照射细胞后染色体断裂的数量和断裂类型发现，两种重离子射线和 γ 射线照射两种细胞后，细胞内均发生了染色单体断裂和等点染色单体断裂(见图 1)。SMMC-7721 染色单体和等点染色单体的断裂量均大于同等剂量下 L02 的。并且由高 LET 重离子引起的染色体断裂量大于同等剂量下 LET 低的 γ 射线所引起的断裂量。

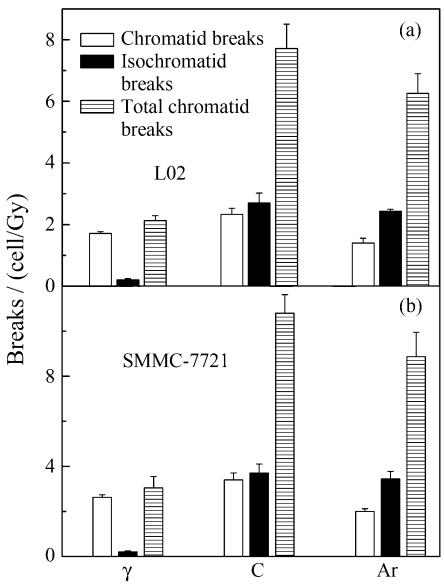

图 1 3 种不同 LET 射线照射引起染色体断裂情况

以染色体总断裂数量得出的 RBE 值：96.05 keV/μm 的 $^{12}C^{6+}$ 为 3.6(L02)和 3.5(SMMC-7721)；512 keV/μm 的 $^{36}Ar^{18+}$ 两种细胞系均下降为 2.9。

高 LET 离子束($^{12}C^{6+}$，$^{36}Ar^{18+}$)所产生的等点染色单体断裂量要远远大于低 LETγ 射线。以等点染色单体断裂数量得出的 RBE 值如下：96.05 keV/μm 的 $^{12}C^{6+}$ 为 12.9(L02)和 17.6(SMMC-7721)；512 keV/μm $^{36}Ar^{18+}$ 降为 11.6(L02)和16.4(SMMC-7721)。

相对于导致等点染色单体断裂的能力而言，高 LET 离子束引发染色单体断裂的能力与低 LET 的 γ 射线相差不多。以染色单体断裂数量得出的 RBE 值：96.05 keV/μm 的 $^{12}C^{6+}$ 为 1.36(L02)和 1.29(SMMC-7721)；512 keV/μm 的 $^{36}Ar^{18+}$ 降为 0.82(L02)和 0.76(SMMC-7721)。

3.2 两种细胞 24 h 内的修复

辐照后 0，0.5，1，2，4，12 和 24 h 每细胞内染色体剩余断裂量如图 2 所示。L02 受 C 离子辐照后 24 h 内染色体总断裂量有 22.6%得到修复，被 Ar 离子辐照后 24 h 内有 7.0%得到修复。SMMC-7721 的相应值分别为 20%和 15.9%。同时，24 h 内修复情况显示，主要的修复过程集中在前 2 h 内完成。

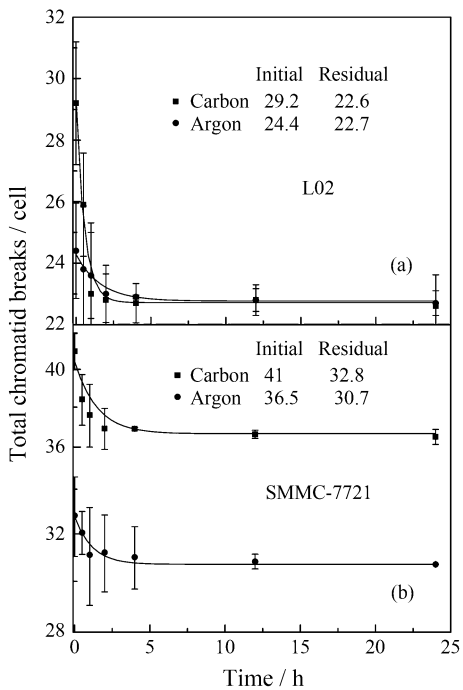

图 2 L02 和 SMMC-7721 受 C 离子和 Ar 离子辐照后 24 h 内的修复情况

4 讨论

我们的研究发现，HIRFL 产生的 C 离子和 Ar

离子可以高效地杀伤肿瘤细胞，在诱发染色体断裂方面具有高的 RBE。并且随着 LET 的升高，等点染色单体的断裂对细胞致死的影响逐渐增加，等点染色单体的断裂随 LET 的增加成为主要断裂类型，这在 Kawata 等人的研究中也曾有过报道[7, 8]。

由图 1 可以得到，经 96.05 keV/μm 的$^{12}C^{6+}$辐照后 L02 每细胞每 Gy 产生的等点染色单体占总断裂数的 70%(1 个等点染色体断裂计为 2 个染色单体断裂)，而经 512 keV/μm 的$^{36}Ar^{18+}$辐照后的相应值为 77%；SMMC-7721 经两种离子辐照得到的值分别为 69%和 77.6%。两种细胞经 Ar 离子辐照后产生的等点染色单体断裂的比例要大于经 C 离子辐照后的比例。说明经更高 LET Ar 离子辐照后更容易产生等点染色单体的断裂。从图 2 可以看到，经 C 离子辐照后染色体修复比例要大于经 Ar 离子辐照的比例。综上所述，我们得到染色单体的断裂较等点染色单体更加容易修复。

但是从 RBE 的角度来看，无论是以染色体断裂总量、等点染色单体或者染色单体断裂为参考所得出的 RBE 值，都是 C 离子的要高于 Ar 离子的。这是因为拥有过高 LET 的 Ar 离子，在对细胞辐照时出现了“超杀”效应(overkill effect)，造成了能量的浪费。

在实际对肿瘤患者的治疗中，我们究竟选择哪种离子并且用多大的 LET 进行放疗时，不但要考虑到对癌细胞有尽可能大杀伤效果(拥有较高的 RBE 值)，同时还要考虑到对正常组织要有最大程度上的保护(L02 受 C 离子辐照后 24 h 内染色体总断裂量有 22.6%得到修复，被 Ar 离子辐照后24 h 内有 7.0%得到修复。SMMC-7721 相应值为 20%和 15.9%)。所以就本文所选用的两种不同 LET 的重离子来看，C 离子的优势要明显大于 Ar 离子。这种优势在实际治疗过程中所采用的分次照射将更加明显。

致谢　对 HIRFL 的工作人员致以诚挚的谢意，感谢他们为本研究提供优质的重离子束流。

参考文献(References)：

[1] Waldren C A, Johnson R T. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1974, 71: 1137.

[2] Yang J S, Li W J, Jin X D, *et al*. The British Journal of Radiology, 2006, 79: 518.

[3] Wang Zhuanzi, Li Wenjian, Yang Jianshe, *et al*. Nuclear Physics Review, 2006, 23(1): 43(in Chinese).
(王转子，李文建，杨建设等. 原子核物理评论，2006，23(1)：43.)

[4] Yang Jianshe, Li Wenjian, Zhao Jing, *et al*. Nuclear Physics Review, 2005, 22(2): 212(in Chinese).
(杨建设，李文建，赵靖等. 原子核物理评论，2005，22(2)：212.)

[5] Kawata T, Gotoh E, Durante M, *et al*. International Journal of Radiation Biology, 2000, 76(5): 929.

[6] Begg A C, Sprong D, Balm A, *et al*. Radiotherapy and Oncology, 2002, 62: 335.

[7] Savage J R. Journal of Medical Genetics, 1976, 13(1): 103.

[8] Kawata T, Gotoh E, Durante M, *et al*. International Journal of Radiation Biology, 2000, 76: 929.

Radiobiological Response of Cells Exposed to Radiations with Different LET*

JING Xi-gang[1, 2, 1)], LI Wen-jian[1], YANG Jian-she[3], WANG Zhuan-zi[1], WEI Wei[1]

(1 *Institute of Modern Physics*, *Chinese Academy of Sciences*, *Lanzhou* 730000, *China*;
2 *Graduate School of Chinese Academy of Sciences*, *Beijing* 100049, *China*;
3 *Life Science College*, *Northwest Normal University*, *Lanzhou* 730070, *China*)

Abstract: Human hepatoma SMMC-7721 and normal liver L02 cells were irradiated with γ-rays, $^{12}C^{6+}$

* **Received date**: 13 Jan. 2009; **Revised date**: 24 Feb. 2009

* **Foundation item**: National Natural Science Foundation of China(10875153); Special Prophase Project on Basic Research of National Department of Science and Technology(2003CCNB00200)

1) E-mail: jingxigang@impcas.ac.cn

and $^{36}Ar^{18+}$ ion beams at the Heavy Ion Research Facility in Lanzhou(HIRFL). We reported the kinetic repair of chromosome breaks of L02 and SMMC-7721 cells in 24 h of post-irradiation time. The relative biological effectiveness(RBE) for inducing chromatid breaks were 3.6 for L02 and 3.5 for SMMC-7721 cell lines at the linear energy transfer(LET) peak of 96.55 keV/μm $^{12}C^{6+}$ ions, and 2.9 (both of the two cell lines) at 512 keV/μm $^{36}Ar^{18+}$ ions. It suggested that the RBE of isochromatid-type breaks induced by $^{36}Ar^{18+}$ was higher than those by $^{12}C^{6+}$. We concluded that the high production of isochromatid-type breaks, induced by the densely ionizing track structure, could be regarded as a signature of high-LET radiation exposure.

Key words: heavy ion; linear energy transfer; prematurely chromosome condensation; relative biological effectiveness