

模拟不同照射模式对鼻咽癌 CNE-2 细胞放射生物学效应影响

陈琛 邹仁芳 胡英 席许平

421000 衡阳, 南华大学研究生院 2012 级研究生(陈琛、邹仁芳); 410013 长沙, 湖南省

肿瘤医院放疗科、鼻咽癌研究室(胡英、席许平)

通信作者: 席许平, Email: xixuping@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1004-4221.2016.02.000

IMRT 较常规照射延长了照射时间, 可降低组织吸收相对剂量率, 放射生物学效应有下降趋势, 应用于临床的单次剂量尚不明确。本研究模拟常规和调强模式照射鼻咽癌 CNE-2 细胞, 探索不同照射时间及剂量对该细胞放射生物学效应的影响。

一、材料与方法

1. 细胞来源及培养条件: 鼻咽癌 CNE-2 细胞由中南大学肿瘤所馈赠, 培养在含 10% 胎牛血清、1% 双抗 PRMI-1640 培养基中, 置于 37℃、含 5% CO₂ 培养箱中。

2. 实验分组: 实验分为模拟常规模式、调强模式照射组和空白对照组。常规模式组照射单次完成。鼻咽癌在临床 IMRT 中多采用 7 个野照射, 因此调强模式照射组的每次照射总剂量和时间等分分割为 7 次, 每次停顿时间为均等。空白对照组不接受照射, 随实验组一起转移。

3. 照射方法: 瓦里安 2300C/D 直线加速器 6 MV X 线单野垂直照射, 射野 20 cm×20 cm, 源皮距 100 cm, 细胞面朝上, 上覆 1.5 cm 厚等效蜡板。剂量率 300 cGy/min。

4. 实验方法: 模拟设置常规模式照射组和调强模式 10、15、20 min 照射组, 给予 0、1、2、4、6、8、10 Gy 7 个剂量点照射; 每个照射组单次剂量分别为 2.0、2.2、2.3、2.4 Gy, 1 次/d, 5 次/5 d, 总剂量为 10.0、11.0、11.5、12.0 Gy。

5. 克隆形成实验: 照射后细胞在标准条件下培养 12~14 d。结晶紫染色, 计数>50 个细胞的克隆集落。克隆形成率 = 克隆数/接种细胞数×100%, 细胞存活分数(SF) = 受照细胞克隆形成率/对照细胞克隆形成率。

6. 统计方法: 采用 GraphPad Prism 5.0 软件按多靶单击公式 $SF = 1 - (1 - e^{-D/D_0})^N$ 和线性二次方程 $S = e^{\alpha D - \beta D^2}$ 拟合细胞存活曲线, 使用 SPSS 18.0 软件行方差分析。P<0.05 为差异有统计学意义。

二、结果

1. 不同照射时间下细胞放射生物学参数: 模拟调强模式 10 min 照射组与常规模式照射组间放射生物学参数间差异无统计学意义(P>0.05)。余照射组间放射生物学参数 α 、 D_0 、SF₂ 间差异有统计学意义(P<0.05), 放射生物学参数 β 、 α/β 和 D_0 的差异无统计学意义(P>0.05), 详见表 1。

2. 不同单次剂量及照射时间下 SF 值: 空白组的 SF 为 1.000, 各实验组 SF 见表 2。将 SF、照射剂量与照射时间进

行析因设计方差分析发现, 当分次剂量分别为 2.0、2.2、2.3、2.4 Gy 时, 照射时间对 SF 主效应不显著(P=0.238); 当照射时间分别为单次完成、延长至 10、15、20 min 时, 照射剂量对 SF 主效应也不显著(P=0.729); 照射剂量与照射时间之间不存在交互效应(P=0.966)。

表 1 鼻咽癌 CNE-2 细胞不同处理组的放射生物学参数($\bar{x} \pm s$)

组别	SF ₂	α (Gy ⁻¹)	D ₀ (Gy)
常规组	0.459±0.109	0.314±0.049	0.537±0.097
15 min 组	0.531±0.111	0.180±0.012	1.190±0.117
20 min 组	0.580±0.112	0.103±0.020	1.498±0.067

表 2 鼻咽癌 CNE-2 细胞不同处理组细胞存活分数($\bar{x} \pm s$)

组别	常规组	10 min 组	15 min 组	20 min 组
2.0 Gy	0.146±0.124	0.144±0.047	0.116±0.073	0.128±0.093
2.2 Gy	0.093±0.070	0.147±0.109	0.146±0.116	0.099±0.055
2.3 Gy	0.066±0.044	0.147±0.099	0.112±0.073	0.099±0.056
2.4 Gy	0.070±0.029	0.135±0.091	0.145±0.113	0.085±0.054

三、讨论

克隆形成实验绘制细胞存活曲线是测定细胞放射敏感性经典的方法。拟合细胞存活曲线常用的方法是多靶单击模型和线性二次模型^[1], 通过这两种模型能够计算出 D₀、D_q、N 和 α 、 β 、 α/β 值等放射生物学参数。本研究常规组与模拟调强 15、20 min 组间放射生物学参数 SF₂、 α 、D_q 间差异均有统计学意义, 提示照射时间延长, 细胞放射生物学效应随之降低, 与文献报道^[2-4] 相似。但本研究发现常规组与模拟调强 10 min 组间放射生物学参数的差异无统计学意义, 提示当照射时间≤10 min 时, 照射时间的延长对鼻咽癌细胞 CNE-2 的放射生物学效应影响不大。这与 McGarry 等^[5] 报道类似, 他们发现前列腺癌延长照射时间<10 min 时 SF 与常规照射差异无统计学意义。本研究采用 4 个不同照射剂量与照射时间对鼻咽癌 CNE-2SF 的影响无统计学意义。朱小东等^[6] 报道连续 5 d 常规剂量照射 CNE-2 细胞时, 照射第 3~4 天细胞增殖活性最快, 第 5 天细胞活性最低。因此连续照射 5 d 后, 考虑剂量对 SF 影响有一个累积效应, 使之达到一个谷值, 改变了不同照射时间和剂量对 SF 影响。

总之,随着直线加速器更新换代,临床单次调强照射时间缩短,在保证总效应情况下,适当减少单次照射剂量成为可能。

参 考 文 献

- [1] 杨伟志.临床放射生物学[A]//殷蔚伯,余子豪,徐国镇,等.肿瘤放射治疗学[M].4版.北京:中国协和医科大学出版社,2008:236-237.
Yang WZH. Clinical radiobiology [A]//Yin WB, Yu ZH, Xu GZH, et al. Radiation oncology therapeutics [M].4 ed. Beijing: Publishing house of peking union medical college,2008:236-237.
- [2] Sterzing F, Munter MW, Schafer M, et al. Radiobiological investigation of dose-rate effects in intensity-modulated radiation therapy [J]. Strahlenther Onkol,2005,181(1):42-48.
- [3] 钱立庭,杨伟志,刘新帆.模拟 IMRT 模式的生物效应研究初探 [J].中华放射肿瘤学杂志,2005,14(5):431-433.
Qian LT, Yang WZH, Liu XF. Preliminary study on IMRT simulation model of biological effects [J]. Chin J Radiat Oncol,

2005,14(5):431-433.

- [4] Zheng XK, Chen LH, Wang WJ, et al. Impact of prolonged fraction delivery times simulating IMRT on cultured nasopharyngeal carcinoma cell killing [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2010, 78(5):1541-1547. DOI:10.1016/j.ijrobp.2010.07.005.
- [5] McGraay CK, Butterworth KT, Trainor C, et al. Temporal characterization and in-vitro comparison of cell survival following the delivery of 3D-conformal, intensity-modulated radiation therapy (IMRT) and volumetric modulated arc therapy (VMAT) [J]. Phys Med Biol, 2011, 56(8):2445-2457. DOI:10.1088/0031-9155/56/8/008.
- [6] 朱小东,曲颂,李力,等.鼻咽癌细胞株 CNE-2 连续照射期间细胞增殖状况研究 [J].现代肿瘤医学,2008,16(8):1281-1284.
Zhu XD, Qu S, Li L, et al. Nasopharyngeal carcinoma cell CNE-2 cell proliferation during continuous exposure [J]. Mod Cancer Med, 2008, 16(8):1281-1284.

(收稿日期:2015-02-04)