

应用 MR 氢谱检测大鼠脑胶质瘤 C6 细胞放射损伤

李红霞 崔谊 徐延杰 李福艳 史文琦 王建震 曾庆师

250012 山东大学齐鲁医院放射科

通信作者:曾庆师,Email:zengqs1234@sina.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.1004-4221.2017.02.021

【摘要】 目的 应用高分辨率 MR 氢谱检测大鼠脑胶质瘤细胞系 C6 的放射损伤并初步探讨其机制。**方法** 以 C6 细胞为研究对象,应用 MR 氢谱检测细胞内多种代谢物浓度;彗星实验检测 DNA 损伤;流式细胞术检测周期进程及凋亡率;克隆形成实验观察克隆形成率并初步探讨放射损伤作用机制。采用单因素方差分析, *Pearson* 法相关分析。**结果** 照射剂量由 0 Gy 增加为 1、5、10、15 Gy 时, DNA 损伤逐渐加重且有剂量依赖性 ($P=0.000\sim 0.690$), G_1 期所占百分比显著增加 ($P=0.026\sim 0.749$), 凋亡率逐渐上升 ($P=0.000\sim 0.000$), 克隆形成率逐渐降低 ($P=0.000\sim 0.004$);同时,代谢物比值 Lac/Cr 逐渐减少 ($P=0.000\sim 0.015$), 与 DNA 损伤参数(尾长、彗尾中 DNA 含量、尾矩)呈线性负相关 ($r=-0.971、-0.998、-0.995$), 与凋亡率呈线性负相关 ($r=-0.978$)。**结论** MR 氢谱检测发现 C6 细胞照射后 Lac/Cr 比值变化与肿瘤细胞凋亡有明显相关性,MR 氢谱具有预测脑胶质瘤放射损伤的潜力。

【关键词】 脱氧核糖核酸损伤; 磁共振氢谱; 细胞系,胶质瘤; 细胞凋亡; 周期阻滞

基金项目:国家自然科学基金(81372439)

A study of radiation injury in rat C6 glioma cell line by ¹H-nuclear magnetic resonance spectroscopy

Li Hongxia, Cui Yi, Xu Yanjie, Li Fuyan, Shi Wenqi, Wang Jianzhen, Zeng Qingshi

Department of Radiology, Qilu Hospital of Shandong University, Ji'nan 250012, China

Corresponding author: Zeng Qingshi, Email: zengqs1234@sina.com

【Abstract】 Objective To study the radiation injury of rat C6 glioma cell line by high resolution, ¹H-nuclear magnetic resonance (¹H NMR) spectroscopy, and to preliminarily investigate its mechanism. **Methods** Metabolite concentrations in C6 cells were determined by ¹H NMR spectroscopy. Comet assay was used to evaluate DNA damage. Flow cytometry was used to determine the cell cycle and apoptosis rate. Colony-forming assay was used to measure the colony-forming rate and preliminarily investigate the mechanism of radiation injury. The results were analyzed by one-way analysis of variance and *Pearson* correlation analysis. **Results** With the increase in radiation dose from 0 Gy to 1, 5, 10, and 15 Gy, DNA damage was enhanced in a dose-dependent manner ($P=0.000-0.690$); the percentage of cells in G_1 phase increased ($P=0.026-0.749$); the apoptosis rate significantly increased (all $P=0.000$); the colony-forming rate significantly declined ($P=0.000-0.004$); the Lac/Cr ratio significantly decreased ($P=0.000-0.015$), which had a negative linear correlation with DNA damage parameters (tail length, $r=-0.971$; %DNA in the tail, $r=-0.998$; tail moment, $r=-0.995$) and apoptosis rate ($r=0.978$). **Conclusions** ¹H NMR spectroscopy reveals that the change in the Lac/Cr ratio is associated with injury and apoptosis of C6 cells after radiation. ¹H NMR spectroscopy has the potential to predict radiation injury of glioma.

【Key words】 Deoxyribonucleic acid damage; Proton magnetic resonance; Cell line, glioma; Apoptosis; Cell cycle arrest

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81372439)

胶质瘤是最常见的颅脑原发性肿瘤,具有侵袭性。脑胶质瘤患者预后较差且术后 5 年生存率较低^[1-2],肿瘤的发生发展过程非常复杂,发病机理尚

不清楚,以至于手术结合放化疗仍不能有效降低死亡率^[1]。研究证明,细胞 DNA 损伤及周期阻滞参与肿瘤细胞凋亡过程^[3],在中枢神经系统中 DNA 损伤

与细胞凋亡密切相关^[4]。由化疗药物引起的脑胶质瘤细胞凋亡、坏死率增加及 G₁ 期阻滞与细胞内代谢物存在一定相关性^[3],照射可引起细胞凋亡率增加,同时 DNA 损伤、周期阻滞加重^[5-6]。我们最近的研究证实肿瘤细胞内代谢物相对含量与细胞凋亡率存在一定相关性^[7]。本研究旨在通过分析胶质瘤 C6 细胞照射后 DNA 损伤、周期阻滞与凋亡率的相关性,探讨 MR 氢谱与 DNA 损伤、细胞凋亡的关系,从而为评价脑胶质瘤的放疗疗效提供一种无创性的检测方法。

材料与方法

1. 细胞系和主要试剂:大鼠脑胶质瘤 C6 细胞系购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。DMEM 培养基和胰酶均购自美国 HyClone 公司;胎牛血清购自天津康源生物技术有限公司;培养细胞所用培养瓶及培养皿均购自美国 Corning 公司;细胞冻存液二甲基亚砜(DMSO)购自 DMSO CHINA CHEMICAL 公司;400 目细胞筛网购自德国 Miltenyi 公司;高氯酸溶液、氢氧化钾、重水(内标为三甲基硅烷丙酸钠 3-(Trimethylsilyl) propionic-2,2,3,3-d₄ acid sodium salt,简称 TMSP)、核磁管购自安耐吉化学;细胞周期检测试剂盒购自中国 BestBio 公司、细胞凋亡试剂盒购自美国 BD Pharmingen 公司;OxiSelect™ Comet Assay Kit (3-Well Slides)购自美国 Cell Biolabs 公司。

2. 细胞培养:C6 细胞保存在山东大学国家重点心血管实验室细胞室。细胞培养在 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中,培养条件为 37℃、5%CO₂、饱和湿度,每 2 d 进行换液。

3. 细胞内水溶性代谢物提取:将细胞培养在底面积为 175 cm² 培养皿中,待细胞密度生长至约 50% 时进行 X 线照射,照射后继续培养 24 h 后细胞密度生长至约 80%。每组实验设计 5 个照射剂量,分别为 0、1、5、10、15 Gy,每个剂量 2 个培养皿,此时收集细胞数量约为 1.0×10⁷。弃去培养基,用冰冻 PBS 冲洗 2 次,然后刮取细胞移入离心管配平离心(4℃,1000 r/min,5 min),弃去上清液收集细胞沉淀。细胞沉淀(放在冰盒内,保证细胞沉淀处于冰冻条件下)加入浓度为 12% 冰冻的高氯酸 1 ml,超声波碎裂 5 min,碎裂后将混合液放于高速离心机内离心(0℃,13000 r/min,20 min)。离心后取上清液,加入 1 mmol/L 的氢氧化钾约 800 μl,调整 pH 至 7.2,然后再次高速离心。离心后取上清液置于低压

冻干机(ALPHA1-2LD,德国 CHRIST 公司)内冻干,干燥样品放于-20℃冰箱保存。

4. MR 氢谱测定:细胞内提取物在-20℃冰箱内保存 48 h 后取出,此时提取物外观呈乳白色、干燥、絮状。用精密微量天平称取提取物 10 mg,溶解于 600 μl 4℃保存的重水(内标为 TMSP)中,轻轻吹打,待样品充分溶解后将溶液移入直径为 5 mm 的核磁测试管内进行检测。MR 氢谱检查采用 BRUKER AVANCE 600 型 MR 频谱仪,探头为超低温探头,工作频率为 600.13 MHz。扫描序列选用含抑水脉冲的 zgpr 序列,机器自动匀场,扫描次数 128 次,扫描时间 1 min。获取的氢质子频谱原始数据经傅里叶转换,相位及基线校正之后得到频谱图像。将频谱图像输入处理软件 MestRenova 后对谱线中的主要代谢物,如 TMSP (0.00 ppm)、异亮氨酸(isoleucine, Iso, 1.23 ppm)、乳酸(lactate, Lac, 1.33 ppm)、N-乙酰天门冬氨酸(N-acetylaspartate, NAA, 2.02 ppm)、琥珀酸(succinate, Suc, 2.39 ppm)、肌酸(creatine, Cr, 3.03 ppm)、胆碱(choline, Cho, 3.21 ppm)、肌醇(Myoinositol, MI, 3.55 ppm)等进行化学位移定位并对峰下面积进行积分处理。代谢物浓度=(代谢物峰下面积/TMSP 峰下面积)×(代谢物氢质子数/9)×TMSP 浓度。Lac/Cr=(Lac 峰下面积/Cr 峰下面积)×(Lac 氢质子数/Cr 氢质子数)。

5. 彗星实验(单细胞凝胶电泳实验)检测 DNA 损伤:细胞培养在底面积为 25 cm² 的培养皿中,传代后待细胞密度生长至约 50% 时,进行 X 线照射,照射后继续培养 24 h,此时细胞密度约为 80%。收集细胞,冰冻 PBS 洗涤 2 次,胰酶消化后 PBS 重悬,将细胞浓度调至 1.0×10⁵/ml。细胞悬液与琼脂糖按 1:10 比例混匀,在每个 OxiSelect™ Comet Assay Slides 孔中加入 75 μl 混合液避光、4℃、空气干燥。碱性裂解液裂解细胞 30~60 min,碱性电泳液浸泡 30 min,水平电泳槽电泳 15 min。双蒸水洗涤 3 次 5 min/次,70%冰冻乙醇固定 5 min, DNA 染液(Vista Green DNA Dye, 1 倍)100 μl/孔染色 15 min,荧光显微镜下观察、拍照。CometScore 统计分析 DNA 损伤参数(尾长、彗尾中 DNA 含量及尾矩),每个样本统计 200 个细胞求平均值。

6. 流式细胞仪检测细胞周期分布:细胞照后 24 h 密度生长至约 80% 时收集细胞,胰酶消化后离心取细胞沉淀。冰冻 PBS 洗涤细胞 2 次,浓度调节为 1.0×10⁶/ml,75%冰冻乙醇-20℃固定 1 h。冰冻 PBS 洗涤 1 次,加入 Rnase A 溶液 20 μl,37℃水浴

30 min。400 目筛网过滤后加入 5 μ l PI 染液,混匀后 4 $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min,流式细胞仪检测周期分布,最大激发波长 488 nm。

7.流式细胞仪检测细胞凋亡率:细胞照后 24 h 密度生长至约 80%时收集细胞,胰酶消化后离心取细胞沉淀,冰冻 PBS 洗涤细胞 2 次。用 binding buffer (细胞缓冲液,维持细胞外环境中的渗透压及 pH 值)重悬细胞,浓度调至 1.0×10^6 /ml。然后吸取 100 μ l 细胞悬液至 5 ml 试管,加入 5 μ l FITC Annexin 和 5 μ l PI,室温、避光孵育 15 min。随后置于冰浴中,使用铝箔进行避光,孵育过程中重悬细胞 2~3 次以改善染色效果;加入 400 μ l binding buffer 1 h 内进行流式细胞仪检测。

8.克隆形成实验:将处于指数生长期的细胞分别给予 0、1、5、10、15 Gy X 线照射,之后继续培养 24 h。弃去培养基,胰酶消化制成单细胞悬液 ($10^3 \sim 10^5$ /ml),在 6 孔板中根据照射剂量从小到大分别种入 1000、1500、2000、2500、3000 个细胞/孔,每个剂量点设 6 个平行样本,培养 2 周左右。然后终止培养,弃去培养液,PBS 洗涤 2 次,75%甲醇固定 20 min。1%的结晶紫乙醇溶液染色 10 min,蒸馏水洗去染液,空气干燥。将培养皿倒置并叠加一张网格透明片计数细胞克隆数(按 >50 个细胞为 1 个克隆计数)。

9.统计方法:应用 SPSS 17.0 软件对实验结果进行组间因素方差分析,Pearson 法相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1.C6 细胞 MR 氢谱测定:利用 14.7T 高分辨率 MR 仪检测 C6 细胞经 X 线照射后的氢谱如图 1。C6 细胞内代谢物种类主要有 Iso、Lac、Ace、NAA、Suc、Cr、Cho、MI,各代谢物间含量差别较大。随 X 线照射剂量增大各剂量的代谢物比值 Lac/Cr 逐渐减小如表 1 所示,绘制趋势图如图 2。

2.彗星实验:C6 细胞经 X 线照射后得彗星实验图像,绿色荧光标记的 DNA 染液将细胞内 DNA 分布区域染成绿色,荧光亮度代表 DNA 含量。如图 3 可见,0 Gy 时 DNA 聚集在圆形细胞核内,1、5、10、15 Gy 时在电流作用下部分 DNA 跑到细胞核外,呈尾状即“彗尾”。随 X 线照射剂量增大彗尾逐渐变长,彗尾中 DNA 含量逐渐增多,尾矩逐渐增大,说明 DNA 损伤逐渐加重。DNA 损伤各参数趋势图见图 4,可见 DNA 损伤逐渐加重,0~5 Gy 时变化明显,5~15 Gy 时变化缓慢,呈剂量依赖性。

表 1 胶质瘤 C6 细胞经不同剂量 X 线照射后 MR 氢谱检测代谢物 Lac/Cr 比值的测试值

剂量	1	2	3	4	5	6	平均值	标准差	P 值
0 Gy	0.85	0.93	1.01	0.92	1.03	0.85	0.93	0.08	-
1 Gy	0.75	0.84	0.69	0.74	0.76	0.56	0.72	0.09	0.000
5 Gy	0.66	0.72	0.67	0.59	0.46	0.50	0.60	0.10	0.015
10 Gy	0.59	0.46	0.44	0.46	0.36	0.36	0.44	0.08	0.002
15 Gy	0.30	0.29	0.27	0.39	0.28	0.35	0.31	0.05	0.013

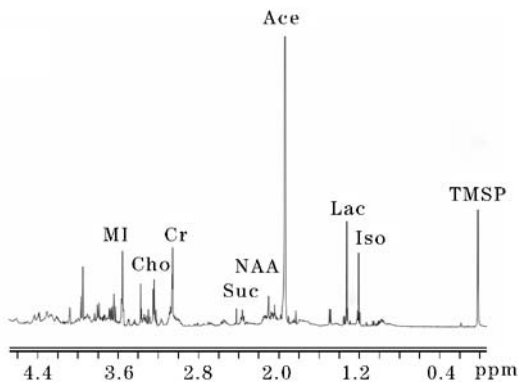


图 1 胶质瘤细胞 C6 高分辨率 MR 氢谱(Iso、Lac、Ace、NAA、Suc、Cr、Cho、MI 含量差别较大,Ace 及 Lac 等含量较多,NAA 及 Suc 等含量较少)

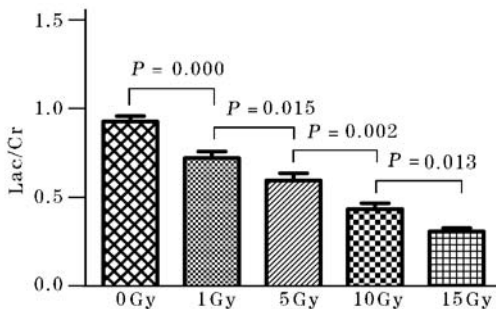


图 2 胶质瘤 C6 细胞经不同剂量 X 线照射后 Lac/Cr 变化图

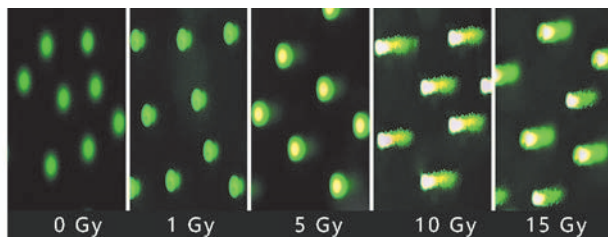


图 3 胶质瘤 C6 细胞经不同剂量 X 线照射后彗星实验图像

3.细胞周期阻滞:C6 细胞经不同剂量 X 线照射后的细胞周期分布如图 5 所示,X 线剂量由 0 Gy 增加为 1、5、10 Gy 时 G_1 期所占百分比由 $(58.12 \pm 1.98)\%$ 分别增加为 $(67.08 \pm 4.79)\%$ 、 $(75.72 \pm 2.97)\%$ 、 $(81.86 \pm 3.43)\%$ ($P = 0.026 \sim 0.049$);照射剂量增加为 15 Gy 时 G_1 期所占百分比为 $(80.72 \pm$

2.35)% , 与 10 Gy 时相近 ($P=0.749$)。另外, X 线剂量为 5、10 Gy 时 S 期所占百分比分别为 $(12.48 \pm 1.65)\%$ 、 $(5.67 \pm 2.82)\%$ ($P=0.043$); X 线剂量为 1、5 Gy 时 G_2 期所占百分比分别为 $(15.60 \pm 1.92)\%$ 、 $(10.15 \pm 1.83)\%$ ($P=0.013$)。

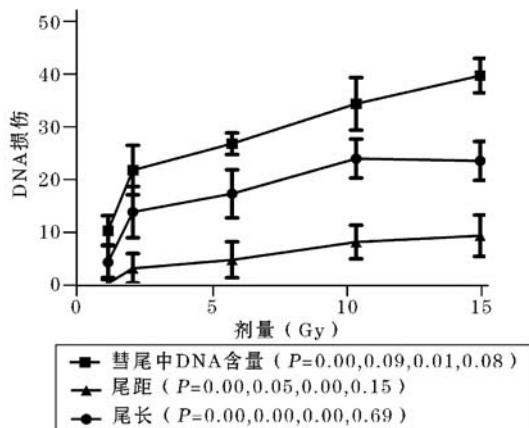


图 4 胶质瘤 C6 细胞经不同剂量 X 线照射后 DNA 损伤参数变化趋势图

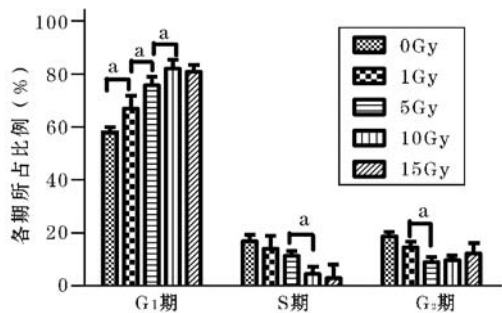


图 5 胶质瘤 C6 细胞经不同剂量 X 线照射后周期分布图 ($a P=0.026 \sim 0.049$)

4. 细胞凋亡率测定: C6 细胞随照射剂量增大凋亡率逐渐增加, 呈现出先快后慢趋势, 如图 6 所示。照射剂量为 0 Gy 时细胞凋亡率为 $(3.59 \pm 0.27)\%$, 5 Gy 时凋亡率增加为 $(7.96 \pm 0.29)\%$ ($P=0.000$); 随照射剂量逐渐增大凋亡率增加缓慢, 当 15 Gy 时凋亡率为 $(12.09 \pm 0.24)\%$ 。

5. 克隆形成实验: 照射剂量由 0 Gy 增加为 1、5、10、15 Gy 时, 克隆形成率明显降低且具有剂量依赖性 ($P=0.000 \sim 0.004$), 如图 7 所示。

6. 相关分析: 随照射剂量增加, 代谢物比值 Lac/Cr 逐渐减少 ($P=0.000 \sim 0.015$), 与 DNA 损伤参数 (尾长、彗尾中 DNA 含量、尾距) 呈线性负相关 ($r=-0.971$ 、 -0.998 、 -0.995 , 图 8), 与凋亡率呈线性负相关 ($r=-0.978$, 图 9)

讨 论

脑胶质瘤 C6 细胞经不同剂量 X 线照射后的

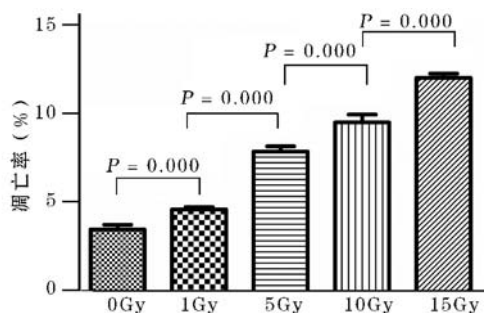


图 6 胶质瘤 C6 细胞经不同剂量 X 线照射后凋亡率变化图

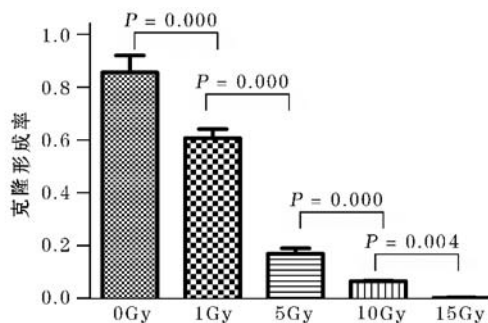


图 7 胶质瘤 C6 细胞经不同剂量 X 线照射后克隆形成率分布图

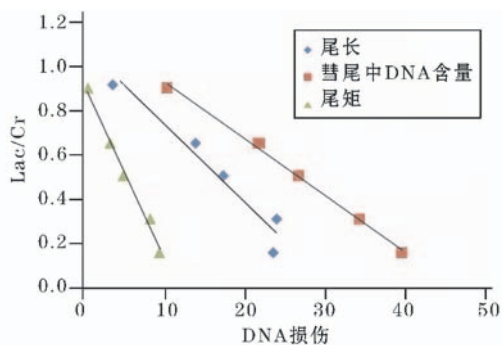


图 8 胶质瘤 C6 细胞代谢物 Lac/Cr 比值与 DNA 损伤参数相关性分析图

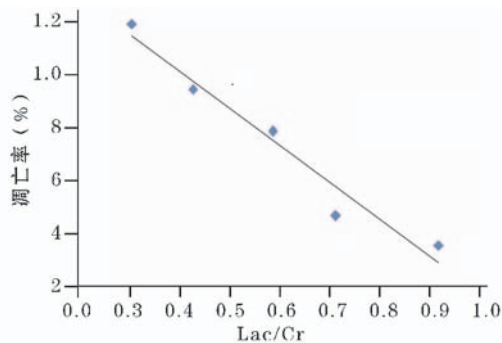


图 9 胶质瘤 C6 细胞代谢物 Lac/Cr 比值与凋亡率相关性分析图

MR 氢谱可见细胞内代谢物种类较多, 代谢物 TMSp、Iso、Lac、NAA、Suc、Cr、Cho、MI 的化学位移分别位于 0、1.23、1.33、2.02、2.39、3.03、3.21、3.55 ppm^[8-9], 且各种代谢物含量差别较大。本研究发

Lac/Cr 与 C6 细胞凋亡率存在明显负相关关系,即随 X 线照射剂量增加,Lac/Cr 逐渐减小,凋亡率逐渐增加。Lac 是糖无氧酵解产物,其含量的多少直接反映了肿瘤等病变组织缺氧代谢情况,不同机体状况下体内 Cr 的含量始终保持相对稳定,因此以 Cr 为参照标准,Lac/Cr 可以反映代谢物 Lac 含量的多少,即随着 X 线照射剂量的增加,缺氧代谢减弱,细胞凋亡率增加。另外,本研究结果显示,随 X 线照射剂量增加,Cho/Cr 逐渐增加、Suc/Cr 逐渐减少,与 Dou 等^[10] 研究结果相似。Cho 是细胞膜脂质双分子层的重要组成部分,Cho 由胆碱、磷酸胆碱和甘油磷酸胆碱组成,其含量高低直接反应了细胞膜磷脂的代谢情况、包膜的转换、脑内神经细胞髓鞘的形成等。García-Álvarez 等^[11] 的研究证实,糖苷(glycoside)或者硫代糖苷(thioglycoside)可引起鞘磷脂酶(sphingomyelinases)的激活,从而引起磷酸胆碱水平的提高。本研究中,X 线照射引起 Cho/Cr 的提高可能是由于鞘磷脂酶的激活引起磷酸胆碱水平的提高;Suc/Cr 随着照射剂量增加而逐渐减少可能跟细胞内一些磷酸酶的激活或抑制有关,Suc/Cr 作为一项指标还需进一步研究。

Annovazzi 等^[12] 研究证实,DNA 损伤修复机制的减损可增强肿瘤细胞的放射敏感性,说明 DNA 损伤加重伴随着细胞凋亡或坏死率增大。我们认为 X 线照射剂量逐渐增加时,DNA 损伤逐渐加重,从而启动一系列信号通路蛋白和受体改变,进而引起周期调节位点的识别受阻逐渐加重,周期阻滞在 G₁ 期;细胞不能完成 DNA 复制进行增殖,从而进入凋亡、坏死过程,凋亡率逐渐增大;肿瘤细胞增殖活动受到抑制,克隆形成率显著降低。Zhang 等^[7] 在其研究中得出,照射剂量由 8 Gy 增加为 12 Gy 时,C6 细胞凋亡率轻度下降,代谢物 Lac/Cr 比值变化不明显,出现短暂的平台期。本实验结果证实,X 线照射剂量由 0 Gy 增加到 5 Gy 时,DNA 损伤明显加重,G₁ 期所占百分比、凋亡率明显增加;而由 5 Gy 增加到 15 Gy 时,DNA 损伤轻度加重,G₁ 期所占百分比变化不明显,凋亡率轻度增加;除外剂量间隔设置不同,与 Zhang 等^[7] 的研究结果基本一致。既往研究证实,胶质瘤细胞放射敏感性受多种因素影响,C6 细胞单次照射最大耐受剂量为 10 Gy 左右;在较低剂量时,放射敏感性较高,放射损伤较重;随照射剂量增加,到耐受阈值左右时,放射敏感性较低,放射损伤增加不明显;这也是近年来脑胶质瘤分割放疗的基础。

细胞 G₁ 期阻滞与细胞凋亡进程显著相关^[13]。照射可引起 C6 细胞周期阻滞,且具有剂量依赖效应^[14-15]。发生 G₁ 期阻滞的细胞内组蛋白 H3 的磷酸化减弱可能与照射引起的 DNA 损伤相关^[15],组蛋白 H3 磷酸化导致核小体重构、变构,导致染色质凝集,促进细胞凋亡。照射剂量为 5~15 Gy 时,接近照射耐受阈值,G₁ 期所占百分比变化不明显,凋亡率增加缓慢。

总之,X 线照射剂量由 0 Gy 增加为 1、5、10、15 Gy 时,C6 细胞 DNA 损伤逐渐加重,凋亡率逐渐增加,代谢物 Lac/Cr 比值与 DNA 损伤及细胞凋亡率均存在线性相关关系。MR 氢谱具有检出脑胶质瘤放射损伤的潜力,为 MR 氢谱无创预测脑胶质瘤患者放疗后疗效提供了新的证据。

参 考 文 献

- [1] Colen CB, Seraji-Bozorgzad N, Marples B, et al. Metabolic remodeling of malignant gliomas for enhanced sensitization during radiotherapy: an *in vitro* study [J]. *Neurosurgery*, 2006, 59 (6): 1313-1323. DOI: 10.1227/01.NEU.0000249218.65332.BF.
- [2] Chaumeil MM, Lupo JM, Ronen SM. Magnetic resonance (MR) metabolic imaging in glioma [J]. *Brain Pathol*, 2015, 25 (6): 769-780. DOI: 10.1111/bpa.12310.
- [3] Mirbahai L, Wilson M, Shaw CS, et al. ¹H magnetic resonance spectroscopy metabolites as biomarkers for cell cycle arrest and cell death in rat glioma cells [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2011, 43 (7): 990-1001. DOI: 10.1016/j.biocel.2010.07.002.
- [4] Kimura-Ohba S, Yang Y. Oxidative DNA damage mediated by intranuclear MMP activity is associated with neuronal apoptosis in ischemic stroke [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 6927328. DOI: 10.1155/2016/6927328.
- [5] Wang Z, Lai ST, Ma NY, et al. Radiosensitization of metformin in pancreatic cancer cells via abrogating the G₂ checkpoint and inhibiting DNA damage repair [J]. *Cancer Lett*, 2015, 369 (1): 192-201. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.08.015.
- [6] 郭艺航,庄洪卿,袁智勇,等.射波刀治疗后放射性脑坏死影响因素及其预测因子研究[J].中华放射肿瘤学杂志, 2015, 24 (3): 295-298. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1004-4221.2015.03.016. Guo YH, Zhuang HQ, Yuan ZY, et al. A study of influencing factors and predictors for radiation encephalic necrosis after CyberKnife radiotherapy [J]. *Chin J Radiat Oncol*, 2015, 24 (3): 295-298. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1004-4221.2015.03.016.
- [7] Zhang ZT, Zeng QS, Liu Y, et al. Assessment of the intrinsic radiosensitivity of glioma cells and monitoring of metabolite ratio changes after irradiation by 14.7-T high-resolution ¹H MRS [J]. *NMR Biomed*, 2014, 27 (5): 547-552. DOI: 10.1002/nbm.3091.
- [8] Barba I, Cabañas ME, Arús C. The relationship between nuclear magnetic resonance-visible lipids, lipid droplets, and cell proliferation in cultured C6 cells [J]. *Cancer Res*, 1999, 59 (8): 1861-1868.
- [9] Shao W, Gu JP, Huang CH, et al. Malignancy-associated metabolic profiling of human glioma cell lines using ¹H NMR spectroscopy [J]. *Mol Cancer*, 2014, 13: 197. DOI: 10.1186/1476-4598-13-197.
- [10] Dou WB, Zhang MY, Zhang XJ, et al. Convex-envelope based automated quantitative approach to multi-voxel ¹H-MRS applied to brain tumor analysis [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (9): e0137850. DOI: 10.1371/journal.pone.0137850.

[11] García-Álvarez I, Garrido L, Romero-Ramírez L, et al. The effect of antitumor glycosides on glioma cells and tissues as studied by proton HR-MAS NMR spectroscopy [J]. PLoS One, 2013, 8 (10): e78391. DOI: 10.1371/journal.pone.0078391.

[12] Annovazzi L, Caldera V, Mellai M, et al. The DNA damage/repair cascade in glioblastoma cell lines after chemotherapeutic agent treatment [J]. Int J Oncol, 2015, 46 (6): 2299-2308. DOI: 10.3892/ijo.2015.2963.

[13] Mirbahai L, Wilson M, Shaw CS, et al. Lipid biomarkers of glioma cell growth arrest and cell death detected by ¹H magic angle spinning MRS [J]. NMR Biomed, 2012, 25(11): 1253-1262. DOI:

10.1002/nbm.2796.

[14] Fu XY, Zhang S, Wang K, et al. Caudatin inhibits human glioma cells growth through triggering DNA damage-mediated cell cycle arrest [J]. Cell Mol Neurobiol, 2015, 35 (7): 953-959. DOI: 10.1007/s10571-015-0190-x.

[15] Sharma AK, Bhattacharya S, Khan SA, et al. Dynamic alteration in H3 serine 10 phosphorylation is G₁-phase specific during ionization radiation induced DNA damage response in human cells [J]. Mutat Res, 2015, 773: 83-91. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2015.01.017.

(收稿日期: 2016-06-08)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本期英文缩略语的英文全名及汉语翻译

BED = biologically effective dose = 生物等效剂量。

CBCT = cone beam CT = 锥形束 CT; 95% CI = confidence interval = 95% 可信区间; CR = complete response = 完全缓解; CTV = clinical target volume = 临床靶体积。

3DCRT = three-dimensional radiotherapy = 三维适形放疗; DFS = disease-free survival = 无瘤生存; D_{max}、D_{mean}、D_{min}、D_{x cm³}、D_{x%} 分别为最大剂量、平均剂量、最小剂量、x cm³ 剂量、x% 靶体积剂量; DM = distant metastasis = 远处转移; DMFS = distant metastasis-free survival = 无远处转移生存; 2DRT = two-dimensional radiotherapy = 二维放射治疗; 3DRT = three-dimensional radiotherapy = 三维放射治疗; DVH = dose volume histogram = 剂量体积直方图。

EGFR = epidermal growth factor receptor = 表皮生长因子受体; EPID = electronic portal image device = 电子射野影像装置。

FF = filter free = 均整器; FFF = flattening filter free = 无均整器。

GTV = gross tumor volume = 大体肿瘤体积; GTV_{nx} = nasopharyngeal GTV = 鼻咽 GTV; GTV_{nd} = GTV - N = nodal GTV = 淋巴结 GTV。

HI = homogeneity index = 均匀性指数; HR = Hazard ratio = 危险比。

IMRT = intensity-modulated radiation therapy = 调强放疗。

KPS = Karnofsky performance status = 行为状态评分。

LC = local control = 局部控制; LR = local recurrence = 局部复发。

MLC = multi-leaf collimator = 多叶准直器。

NSCLC = non-small cell lung cancer = 非小细胞肺癌; NTCP = normal tissue complication probability = 正常组织并发症概率。

OAR = organs at risk = 危及器官或组织; OS = overall survival = 总生存。

PD = progression disease = 疾病进展; PDD = percent depth dose = 百分深度剂量; PFS = progression-free survival = 无进展生存; PGTV = planning gross tumor volume = 计划大体肿瘤体积; PR = partial response = 部分缓解; PTV = planning target volume = 计划靶体积。

RFS = recurrence free survival = 无复发生存; RILD = radiation-induced liver disease = 放射性肝脏病; ROI = region of interest = 感兴趣区; RTOG = radiation therapy oncology group = 放疗肿瘤组织。

SBRT = stereotactic body radiation therapy = 体部立体定向放疗; SD = stable disease = 病情稳定; SRT = stereotactic radiation therapy = 立体定向放疗; SSD = surface to source distance = 源皮距。

TACE = transcatheter arterial chemoembolization = 经导管肝动脉化疗栓塞; TE = time of echo = 回波时间; TPS = treatment planning system = 治疗计划系统; TR = time of repetition = 重复时间。

VEGF = vascular endothelial growth factor = 血管内皮生长因子; VMAT = volumetric modulated arc therapy = 容积调强弧形治疗; V_x = 正常组织接受 x Gy 照射体积占总体积百分比。

WBRT = white brain radiation therapy = 全脑放疗。

本刊编辑部