

## 分次剂量可变方案照射 MCF-7 乳腺癌细胞的实验研究

鞠永健<sup>1</sup>, 高瑞霖<sup>2</sup>, 梁宏伟<sup>2</sup>, 宋卫华<sup>1</sup>, 王高仁<sup>1</sup>, 邵义祥<sup>2</sup>, 张良安<sup>3</sup>

中图分类号: T172 文献标识码: A 文章编号: 1004-714X(2007)02-0151-02

**【摘要】** 目的 用人乳腺癌细胞 MCF-7 研究不等分次剂量 (VFS) 照射方案的效果。方法 10 组相同数目的 MCF-7 细胞样本, 用 MTT 分析方法获得不同的分次剂量方案照射后的细胞存活率 (S) 进行比较。结果 除 1 组外, 其余 9 组 VFS 方案照射后获得的 S 值均小于 CFS 照射后的 S 值, 其中有统计学意义的有 3 组; 在相同变化幅度的情况下, 递减的 VFS 照射方案所获得的效果要好于递增 VFS 照射方案, 其中有显著的统计学意义的有 2 组。结论 实验结果与理论计算结果一致, 所以, VFS 方案, 尤其是分次剂量递减的 VFS 方案可能应用于临床以提高治疗效果。

**【关键词】** 分次照射; 细胞存活率; 噻唑蓝; 分次剂量

Research on the Effect of Fractionated Irradiation with Variable Fraction Sizes with SMMC7721 Liver Malignancy Cells  
JU Yong-jian, GAO Rui-lin, LIANG Hong-wei et al. Department of Radiation Oncology, Nanong No. 1 People's Hospital, Nanong 226001, China

**【Abstract】** Objective To analyze the effect of fractionated irradiation with variable fraction sizes (VFS) with human mammary tumor cells MCF-7. Methods Ten samples with the same number of MCF-7 cells were irradiated with different fractionated protocols, then using MTT analysis method, the cell survival probability (S) is obtained and compared with each other. Results In nine groups, the S value of the samples irradiated with VFS protocols are lower than that of the sample irradiated with constant fraction sizes (CFS) protocol, also the differences between some of the results are of statistical significance. And for the same variety range, the effect of irradiation with decreasing fraction sizes is better than that of irradiation with increasing fraction sizes; also the differences of S value between two groups are of statistical significance. Conclusion The result of experiment with MCF-7 cells conforms to the former calculation results. Therefore the VFS irradiation protocol, especially the protocol with decreasing fraction sizes can probably be used in clinics to enhance the treatment effect.

**【Key words】** Fractionated Irradiation; Cell Survival Probability; MTT; Fraction Size

在处方剂量一定的情况下如何选择合适的分次照射方案以获得最大的肿瘤局部控制概率一直是放射治疗学家们研究的课题, 也是临床医生们普遍关心的问题。笔者的理论计算表明, 在给定治疗剂量、分次数及治疗时间的情况下, 分次剂量可变 (Variable Fraction Size, VFS) 照射方案能获得比分次剂量相等 (Constant Fraction Size, CFS) 方案低的肿瘤细胞存活率<sup>[1]</sup>, 另外用 SMMC7721 肝癌细胞进行的 VFS 方案照射后细胞存活实验的部分结果也与理论计算结果一致<sup>[2]</sup>。为进一步对理论结果进行验证, 笔者又用人乳腺癌细胞 MCF-7 进行了实验, 现将结果报道如下。

### 1 材料和方法

1.1 材料 人乳腺癌细胞 MCF-7 (购自中国科学院上海生物科学院细胞资源中心); MTT (商品名噻唑蓝, 购自民海生物公司); 0.25% 胰蛋白酶; RPMI 1640 培养液 (含 12% 胎牛血清, 青、链霉素, 0.005% 胰岛素); 二甲基亚砜 (DMSO 分析纯); Siemens 公司 KD-2 型加速器; 352 型酶联免疫分析仪 (芬兰 Lab-systems 公司)。

### 1.2 方法

1.2.1 细胞培养及照射 将 MCF-7 细胞常规培养, 取指数生长期细胞制成单细胞悬液接种到 10 组 100 ml 培养瓶中, 每组 2 个培养瓶, 每瓶  $1.5 \times 10^5$  个细胞, 连续 10 d 每天照射 1 次, 总吸收剂量为 15 Gy。照射时采用 6 MVX 线, 源皮距为 100 cm, 射野为  $10 \times 10 \text{ cm}^2$ 。其中 5 组分次剂量间以等比 K 变化, 其等比取值为: 0.9, 0.95, 1.02, 1.05, 1.1; 4 组分次剂量间

以等差  $\delta$  变化, 等差取值为  $-0.15 \text{ Gy}$ ,  $-0.1 \text{ Gy}$ ,  $0.1 \text{ Gy}$  和  $0.15 \text{ Gy}$ 。1 组采用 CFS 照射方案, 即每天照射 1.5 Gy。照射过程中每天集体换培养液一次。

1.2.2 MTT 分析 细胞照射完毕后, 用胰酶消化, 离心, 每瓶单独制备单细胞悬液 10 ml, 用加样器每组取 6 份接种于 96 孔板中, 每份 200  $\mu\text{l}$ 。由于预实验确定 MCF-7 细胞的倍增时间为 58.9 h, 由计算可知未经照射的  $1.5 \times 10^5$  个初始接种细胞经过同样时间培养后数目为  $1.9 \times 10^6$  个, 所以取  $1.9 \times 10^6$  个未经照射的细胞制备成 10 ml 的单细胞悬液作为未照射组, 取 6 份, 每份 200  $\mu\text{l}$  接种到 96 孔板中; 另取 6 孔作为调零孔, 每孔加入 200  $\mu\text{l}$  培养液。将 96 孔板移入培养箱, 在 37℃, 5%  $\text{CO}_2$  + 95% 空气, 高湿度条件下培养 24 h 弃去 96 孔板中的培养液, 每孔加入 20  $\mu\text{l}$  MTT 继续培养 4 h 弃去多余的 MTT 溶液, 每孔加入 150  $\mu\text{l}$  DMSO 轻微振荡 10 min 使结晶物充分溶解, 用酶联免疫分析仪 490 nm 光谱测量每孔的吸光度 A 值。

### 1.2.3 某一照射方式获得的细胞存活率 (S)

由下式计算:

$$S = \frac{\text{某一照射方案组获得的 } A \text{ 值}}{\text{未照射组 } A \text{ 值的平均值}} \quad (1)$$

其中, 所有吸光度 A 值均已经过调零处理, 即已减去了调零孔 A 值读数的平均值。

### 1.2.4 统计学处理 采用 $\chi^2$ 检验。

## 2 结果

实验获得的 MTT 分析结果和计算获得的 S 值结果如表 1 所示。可知, 除第 9 组外, 其余所有组别 VFS 方案照射后获得的 S 值均小于 CFS 照射后的 S 值, 而且, 从趋势上讲, 随着分次剂量间变化幅度的增大, 即 K=1 或  $\delta$  绝对值的增大, 其 VFS 方案照射后所获得的 S 值降低。其中采用第 1、6、7 组 VFS 方案照射后获得的 S 值与 CFS 方案 (第 10 组) 照射后 S 值之间的差距有显著的统计学意义。

基金项目: 南通市社会发展科技计划资助项目 (S5026)

作者单位: 1 江苏省南通市第一人民医院, 江苏 南通 226001; 2 南通大学实验动物中心; 3 中国医学科学院放射医学研究所

作者简介: 鞠永健 (1973~), 男, 江苏泰兴人, 博士, 副主任放射物理师, 主要从事放射治疗剂量及生物效应方面研究。

表 1 不同分次方案照射后 MTT测量的  
吸光度 A值及细胞存活率

组别	K或 δ取值	吸光度 A值 (mean±SD)	存活率 S(%) (mean±SD)
1	K=0.9	0.1837±0.0343	37.56±7.02 <sup>(1)</sup>
2	K=0.95	0.2968±0.0536	60.70±10.95
3	K=1.02	0.2792±0.0704	57.09±14.41
4	K=1.05	0.3048±0.0565	62.33±11.56
5	K=1.1	0.2058±0.0962	42.10±19.67
6	δ=-0.15Gy	0.2080±0.0617	42.54±12.62 <sup>(1)(2)</sup>
7	δ=-0.1Gy	0.2223±0.0389	45.46±7.96 <sup>(1)(2)</sup>
8	δ=0.1Gy	0.3032±0.0780	62.00±15.96
9	δ=0.15Gy	0.3277±0.0510	67.00±10.42
10	δ=0	0.3230±0.0417	66.05±8.53

注:未照射组的平均吸光度 A值为 0.48% 与分次剂量相同的照射方案比较(即 δ=0), 1)P<0.05, δ=-0.15Gy与 δ=0.15Gy及 δ=-0.1Gy与 δ=0.1Gy两组方案分别比较; 2)P<0.05.

由表 1还可以看到在以 VFS方案照射时,在相同变化幅度的情况下,用递减分次剂量照射所获得的 S值均比递增分次剂量照射获得的 S值低,即递减分次剂量的照射方案所获得的效果要好于递增分次剂量照射方案。其中,分别比较 δ=-0.15Gy与 δ=0.15Gy, δ=-0.1Gy与 δ=0.1Gy等两组 VFS方案可知,两组获得的 S值之间的差距均有显著的统计学意义。

### 3 讨论

笔者以为,当总治疗剂量保持不变时,采用 VFS照射方案能获得较 CFS方案低的肿瘤细胞存活率是有理论依据的。因为 Jones等<sup>[3]</sup>的研究表明,在保持正常组织效应相同的情况下,等分次剂量(CFS)照射方案中存在一个与肿瘤辐射敏感性及潜在倍增时间有关的最佳的分次剂量,该方案可以使照射获得

最大的肿瘤细胞杀伤效果。由于照射过程中肿瘤辐射敏感性及潜在倍增时间是变化的<sup>[4,5]</sup>,因此,如将整个照射过程分为若干个阶段则要获得整个疗程的最佳疗效,必须在每个照射阶段内都能获得最大的肿瘤细胞杀灭,所以必须在所分的每个阶段内采用不同的最佳分次剂量,亦即采用 VFS方案。

笔者用 MCF-7乳腺癌细胞进行的 VFS方案照射的实验结果再一次部分证实了理论计算结果的正确性,即在治疗剂量、时间及分次数不变的情况下,使用 VFS方案照射,尤其是分次剂量递减的 VFS方案能获得比使用 CFS方案更好的效果,这与笔者的理论计算结果、及用 SMMC7721肝癌细胞进行的实验结果一致。但到目前为止有关 VFS照射方案的动物实验效果及并发症研究得还很少,仍然缺少足够的细胞实验和动物实验证据。下一步笔者拟用荷瘤小鼠进行实验以研究动物实验结果是否与细胞实验结果一致。

### 参考文献:

[1] 鞠永健,张良安,戴光复,等.用肿瘤控制概率模型研究外照射治疗中分次剂量与治疗效果的关系[J].中华放射医学与防护杂志,2002,22(5):368-371.  
[2] 缪旭东,鞠永健,张良安,等.SMMC7721肝癌细胞不等分次剂量照射后效果的实验研究[J].中华放射医学与防护杂志,2004,24(6):523-524.  
[3] Jones B and Dale RG. Mathematical models of tumor and normal tissue response[J]. Acta Oncologica, 1999, 38: 883-893.  
[4] Crokatt N, Jordan BF, Baudelet C, et al. Early reoxygenation in tumors after irradiation: determining factors and consequences for radiotherapy regimens using daily multiple fraction[J]. Int J Radat Oncol Biol Phys, 2005, 63(3): 901-10.  
[5] Zolzer F and Streffer C. Increased radiosensitivity with chronic hypoxia in four human tumor cell lines[J]. Int J Radat Oncol Biol Phys, 2002, 54(3): 910-920.

(收稿日期:2007-01-05)

作程序不明,使放射防护工作开展的难度加大。

2.3 放射工作人员个人剂量监测需要加强 监督检查中发现有一些放射工作人员在经过一段时间的监测后剂量不高,认为再没有必要进行监测的错误认识,致使出现不按规定佩戴个人剂量计或故意将个人剂量计放置在射线中照射的错误行为。

2.4 放射介入防护值得重视 放射介入工作人员操作位剂量全部超标,有的超过标准要求几百倍,应引起足够的重视。

2.5 对招聘和返聘人员防护管理不够重视 按规定应当将招聘和返聘人员纳入管理范围,但一些单位认为不是本单位的正式工作人员,流动性大,没有必要进行培训、发放《放射工作人员证》和佩戴个人剂量计。

### 3 建议

3.1 举办培训班 放射防护工作需要放射防护监督监测部门的努力,更需要放射工作单位的通力合作才能做好,这项工作最终要落在放射工作单位身上。鉴于监督检查中发现的问题,建议举办一期由各单位业务主管、助理员和科主任参加的培训班,培训内容主要是法规、标准,有利于我区今后放射防护工作的开展。

3.2 加大机关督导力度 放射卫生防护监督监测作为军队卫生监督的一个重要组成部分,应将放射防护工作纳入对医疗卫生单位考核的一项内容,引起各单位的足够重视,使这项工作能够更好地开展。

### 参考文献:

[1] GB18871-2002 电离辐射防护与辐射源安全基本标准 [S].  
[2] 军队放射防护监督实施办法 [S].  
[3] 军队卫生监督规定 [S].

(收稿日期:2006-11-29)

(上接第 150页)人员登记和《工作人员证》办理达到 80%,对放射工作人员均进行了防护知识的培训,放射工作人员个人剂量监测率达到 83%,就业前和就业后均按要求进行体检;各单位对放射防护制度均能得到较好的落实。

1.3 经常性放射卫生防护监测 共监测放射工作人员操作位 58个,合格 87.9%;铅防护玻璃 58个,合格 87.9%;操作室防护门 58个,合格 79.3%;走廊防护门 58个,合格 74.1%;机房窗户 9个,合格 22.2%;铅室 2个,均不合格。

1.4 放射工作人员培训、考核及放射工作人员个人剂量监测

由我放射防护监测中心人员编写培训教材,涉及放射防护基础知识、放射防护技术和标准法规等内容。到各单位或按地区分片实施授课,培训结束后组织考核,成绩合格者颁发《放射工作人员证》。参加培训人员共 213人,考核全部合格,其中考核成绩优秀者占 30.5%,良好者占 50.6%。个人剂量监测按规定退火发放和回收检测,将结果通知各放射工作单位,并记入个人剂量档案。

### 2 存在的主要问题

2.1 预防性审查和验收工作没有得到有效落实 预防性审查是放射卫生防护工作的一项重要内容,预防性审查可以杜绝一些不合理的建设项目,也可以为医疗单位节省资金。在检查监督中发现,各医疗卫生单位对预防性审查工作的重要性认识不够,大多数单位新建放射工作场所没有按规定提出预防性审查申请,之后也未提出验收,致使有的放射工作场所未能达到放射防护标准,需要重新改造,有的过度防护,既耗时间又浪费资金。

2.2 法规、标准的宣传贯彻不够 在监督检查中发现,虽然《军队卫生监督规定》和《军队放射防护监督实施办法》已经下发了 5年多,但部分单位对其内容不甚了解,致使放射防护工