

# <sup>125</sup>I 粒子抑制肺腺癌细胞 A549 增殖的研究

徐海兰<sup>1</sup> 刘镭<sup>2</sup> 王鑫<sup>1</sup> 陈千慧<sup>1</sup> 张晓彤<sup>2</sup> 刘欢<sup>1</sup> 张力<sup>1\*</sup>

1 承德医学院附属医院肿瘤科 2 承德医学院免疫学教研室

DOI:10.12238/bmtr.v7i2.13374

**[摘要]** 目的: 探究<sup>125</sup>I粒子对肺腺癌细胞A549增殖的抑制作用。方法: 体外实验使用A549细胞分别接受<sup>125</sup>I粒子不同剂量的辐射刺激,具体分组如下: 0cGy、400cGy和800cGy组。细胞照射完成后采用CCK8实验及细胞克隆形成实验方法检测细胞活力及细胞克隆能力。结果: CCK8实验结果显示,随着辐射剂量的加大,细胞活力均逐渐下降(与0cGy组相比,400cGy和800cGy组的细胞活力分别为 $84.194\% \pm 2.258$ 和 $68.454\% \pm 5.465$ ),差异有统计学意义;细胞克隆形成实验结果显示,随着辐射剂量的加大细胞克隆能力均逐渐下降(0cGy、400cGy和800cGy组分别对应的细胞克隆团数为 $134.667 \pm 8.737$ 个、 $94.333 \pm 4.041$ 个和 $60.333 \pm 5.508$ 个),差异有统计学意义。结论: <sup>125</sup>I粒子抑制肺腺癌细胞的活力及克隆形成能力,从而发挥了抑制肺腺癌细胞生长的作用。

**[关键词]** <sup>125</sup>I粒子; 肺腺癌; 克隆形成实验; CCK8

中图分类号: R734.2 文献标识码: A

## Study on the Inhibitory Effect of <sup>125</sup>I Particles on the Proliferation of Lung Adenocarcinoma A549 Cells

Hailan Xu<sup>1</sup> Lei Liu<sup>2</sup> Xin Wang<sup>1</sup> Qianhui Chen<sup>1</sup> Xiaotong Zhang<sup>2</sup> Huan Liu<sup>1</sup> Li Zhang<sup>1\*</sup>

1 Department of Oncology, Affiliated Hospital of Chengde Medical University

2 Department of Immunology, Chengde Medical University

**[Abstract]** Objective: To investigate the inhibitory effect of <sup>125</sup>I particles on the proliferation of lung adenocarcinoma cells A549. Methods: In vitro experiments were conducted using A549 cells exposed to different doses of <sup>125</sup>I particle radiation, with specific groups as follows: 0 cGy, 400 cGy, and 800 cGy. After cell irradiation, the viability and clonal formation ability were detected using the CCK8 assay and the cell colony formation assay. Results: The CCK8 assay results showed that as the radiation dose increased, cell viability gradually decreased (compared to the 0 cGy group, the viability of the 400 cGy and 800 cGy groups was  $84.194\% \pm 2.258$  and  $68.454\% \pm 5.465\%$ , respectively), with statistically significant differences; the cell colony formation assay results showed that as the radiation dose increased, the clonal formation ability also gradually decreased (the number of colonies formed in the 0 cGy, 400 cGy, and 800 cGy groups was  $134.667 \pm 8.737$ ,  $94.333 \pm 4.041$ , and  $60.333 \pm 5.508$ , respectively), with statistically significant differences. Conclusion: <sup>125</sup>I particles inhibit the viability and clonal formation ability of lung adenocarcinoma cells, thereby exerting an inhibitory effect on their growth.

**[Key words]** <sup>125</sup>I particles; Lung adenocarcinoma; Colony formation assay; CCK-8

根据2024年发布的全球癌症统计数据显示,2022年全球新增癌症病例约2000万例,死亡病例达970万例。肺癌以12.4%的发病率和18.7%的死亡率位居首位<sup>[1]</sup>。非小细胞肺癌(NSCLC)占肺癌病例的84%,其中肺腺癌(LAC)最为常见<sup>[2]</sup>。吸烟是LAC的主要致病因素,其他风险因素包括遗传易感性、辐射暴露及慢性肺部疾病<sup>[3,4]</sup>。LAC早期症状隐匿,多数患者确诊时已错过最佳治疗时机,导致预后不良。现行治疗手段包括手术、放疗、化疗、免疫治疗和靶向治疗,但均存在局限性:手术治疗的适应症人群有限,放化疗毒副作用大,免疫治疗缓解率低且费用高昂,靶向治疗易

产生耐药。相比之下,<sup>125</sup>I粒子植入术具有微创、并发症少、费用低等优势<sup>[5,6]</sup>,但其作用机制尚待深入研究。

近年来,放射性<sup>125</sup>I粒子植入术(Radioactive<sup>125</sup>I Seed, RIS)已广泛应用于治疗各种恶性肿瘤,并取得了令人满意的治疗效果<sup>[5]</sup>。<sup>125</sup>I粒子是核医学科常用的一种放射性同位素,它缓慢而连续地释放低剂量的 $\gamma$ 射线,作用于肿瘤细胞的DNA,引起肿瘤细胞死亡<sup>[7]</sup>。RIS作为一种近距离放射治疗方法,将放射性小颗粒植入肿瘤组织内,向肿瘤靶区提供局部高辐射剂量,并产生持续的效果,而在相邻的正常组织中急剧下降。由于这些辐射的距

离较短,因此可以选择性地有效地杀死癌细胞,而不会对邻近细胞造成明显损伤<sup>[8]</sup>。在大多数无法选择手术切除的LAC中,控制局部肿瘤生长效果明显。此外,它还具有许多优点,包括手术时间短、出血少、并发症风险小、医疗费用低等<sup>[6]</sup>。

既往研究显示<sup>125</sup>I粒子抗肿瘤机制主要是,<sup>125</sup>I粒子辐射可以引起多种类型DNA损伤,包括单链断裂、双链断裂、碱基损伤和DNA蛋白交叉连接并将细胞阻滞于G2/M期从而促使细胞凋亡;持续低剂量率照射对肿瘤血管的损伤使受照区域发生炎症反应,血管内皮细胞以及血管平滑肌细胞增殖抑制、凋亡增加,从而达到抗肿瘤的效果<sup>[9]</sup>。然而,由于肿瘤治疗机制的复杂性,许多问题值得进一步研究。本研究通过体外照射模型实验,证明了<sup>125</sup>I粒子照射能够直接抑制LAC细胞A549的增殖能力,为临床放射性<sup>125</sup>I粒子植入术治疗LAC奠定了理论基础。

## 1 材料和方法

1.1 材料和试剂。NSCLC细胞系人肺腺癌A549细胞购于上海喆文生物科技有限公司,细胞培养皿(6、10cm)和细胞培养板(6孔)购自美国Corning公司,胎牛血清购自普诺赛生命科技有限公司,RPM1640培养基、PBS缓冲液、胰蛋白酶-EDTA消化液均购自美国Gibco公司,结晶紫溶液购自青岛捷世康生物科技有限公司,Cell Counting Kit-8(CCK-8)试剂盒购自美国APEXBI公司,<sup>125</sup>I粒子购自中国原子高科股份有限公司。

1.2 方法。(1)细胞培养。人肺腺癌A549细胞使用RPM1640完全培养基(含10%胎牛血清),置于5%CO<sub>2</sub>、37℃培养箱培养,待细胞密度达到90%左右后,用0.25%胰蛋白酶传代,长至对数生长期的细胞用于实验。(2)细胞体外造模。<sup>125</sup>I粒子辐射:本研究使用自建的<sup>125</sup>I粒子体外辐射装置<sup>[10]</sup>,具体操作如下:取6cm培养皿倒扣,将1颗粒子放于皿底中央,将8颗粒子以等距(35mm)分布并固定,将装有细胞的培养皿置于照射装置上方5mm,并在照射的半程时间旋转细胞,使细胞受到均匀照射。人肺腺癌A549细胞分为三组,分别使用活度为0 mCi(活度为0的粒子)、0.4mCi和0.8mCi的<sup>125</sup>I粒子照射,总辐射剂量分别为0cGy、400cGy和800cGy。(3)CCK8实验。不同剂量(0、400、800cGy)<sup>125</sup>I粒子照射A549细胞后,采用常规消化传代方法,制成细胞悬液充分打散并进行细胞计数,按照 $5 \times 10^3$ 个/孔细胞的浓度分别种于96孔板中,轻轻晃动培养板使细胞均匀分布,后将培养板置5%CO<sub>2</sub>、37℃培养箱中培养48h,将CCK8试剂加入培养板中10uL/孔,37℃孵育2h后酶标仪检测波长450nm处的OD值。(4)集落形成实验。不同剂量(0、400、800cGy)<sup>125</sup>I粒子照射A549细胞后,采用常规消化传代方法,制成细胞悬液充分打散并进行细胞计数,按照 $1 \times 10^3$ 个/孔细胞的浓度分别种于6孔板中,轻轻晃动培养板使细胞均匀分布,后将培养板置于5%CO<sub>2</sub>、37℃培养箱中培养10天左右。当单个克隆团细胞数大于50时,终止培养,弃培养液,1×PBS液润洗2次,甲醇固定15分钟,弃甲醇后空气干燥,用结晶紫染液染色10分钟,流水缓慢洗去多余染液,空气干燥。相机拍照并通过Image J软件进行处理。

1.3 统计学分析。运用GraphPad Prism 9软件进行统计分析并绘制图表。各实验组的数据统一以“Mean±SD”的格式呈现。

若涉及两组以上数据的对比分析,将采用One-way ANOVA方法。针对满足正态分布且方差齐性的样本,在进行均数间两两比较时,选用LSD检验;而对于不满足正态分布和方差齐性的多个样本均数间两两比较,则采用Dunnett T3检验。当P<0.05时,认定差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 <sup>125</sup>I粒子照射抑制LAC细胞的活力。为了探究<sup>125</sup>I粒子对LAC细胞A549细胞活力的影响,用低、高辐射剂量(0、400、800cGy)的<sup>125</sup>I粒子照射A549细胞后,应用CCK8实验检测细胞活力。结果显示(图1),随着<sup>125</sup>I粒子剂量的增加,A549细胞活力呈显著下降趋势,差异有统计学意义(F=67.850,P<0.001),组间两两比较:与0cGy对照组相比,400cGy组(P<0.001)、800cGy组(P<0.001)明显降低,与400cGy组相比,800cGy组(P<0.001)明显降低。提示<sup>125</sup>I粒子可以抑制A549细胞活力。

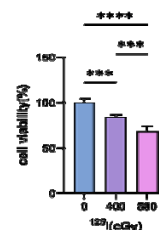


图1 <sup>125</sup>I粒子抑制LAC细胞活力。CCK8检测<sup>125</sup>I粒子在不同辐射剂量作用下对A549细胞活力的影响。

2.2 <sup>125</sup>I粒子照射抑制LAC细胞的克隆形成能力。为进一步探究<sup>125</sup>I粒子对肺腺癌细胞克隆形成能力的影响,用低、高辐射剂量(0、400、800cGy)的<sup>125</sup>I粒子照射A549细胞后,平板克隆形成实验结果显示(图2),随着照射剂量增加,A549细胞的克隆形成数量明显减少,差异有统计学意义(F=101.300,P<0.001)。组间两两比较:与0cGy对照组相比,400cGy组(P<0.001)、800cGy组(P<0.001)明显降低;与400cGy组相比,800cGy组(P=0.002)明显降低。提示<sup>125</sup>I粒子可以抑制A549细胞克隆能力。

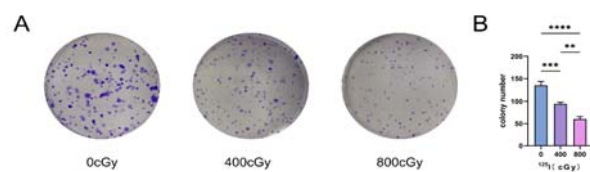


图2 <sup>125</sup>I粒子抑制LAC细胞克隆形成能力。A. <sup>125</sup>I粒子不同辐射剂量作用A549细胞的克隆形成能力。B. A549细胞克隆形成能力的定量结果。

## 3 讨论

LAC的发病机制涉及多基因调控网络,具有高度恶性生物学特征<sup>[11]</sup>。针对晚期不可切除LAC,现行治疗策略主要包括化疗、放疗、免疫治疗及靶向治疗,但均存在显著局限性<sup>[12]</sup>。化疗常导致严重消化道反应(恶心、呕吐、厌食)、骨髓抑制(血小板减少)及恶病质(体重减轻、吸收不良),严重影响治疗耐受性;放疗除全身毒性外,还可引发放射性肺炎、肝损伤及皮肤炎症反应等局

部并发症;免疫治疗具有异质性大、免疫相关不良事件及经济负担重等问题;靶向治疗则受限于靶点检出率及单通路抑制的局限性<sup>[13-15]</sup>。这些治疗瓶颈使得LAC成为临床肿瘤学亟待攻克的难题。

放射性<sup>125</sup>I粒子植入术作为精准内照射治疗技术,凭借其低毒特性、持续低剂量率照射优势及微创可重复的特点,在恶性肿瘤综合治疗中展现出独特价值<sup>[16]</sup>。现有研究证实,<sup>125</sup>I粒子可通过诱导DNA损伤、G2/M期阻滞及凋亡途径,具有显著抑制肿瘤细胞增殖与转移潜能<sup>[17,18]</sup>。分子机制研究表明,<sup>125</sup>I辐射可通过激活p38MAPK/MDM2/p53信号通路,特异性诱导NSCLC细胞凋亡<sup>[18]</sup>。这些发现为LAC治疗提供了新的干预策略。本研究通过体外实验证实了<sup>125</sup>I粒子辐射对LAC细胞A549的显著抑制作用。CCK-8实验结果显示,经<sup>125</sup>I粒子照射后,A549细胞的活力呈现剂量和时间依赖性的显著下降( $P<0.001$ );进一步通过细胞克隆形成实验发现,<sup>125</sup>I粒子照射可显著降低A549细胞的集落形成能力( $P<0.001$ ),这些结果提示<sup>125</sup>I粒子可通过抑制细胞增殖和克隆潜能发挥抗肿瘤效应。

本研究证实了<sup>125</sup>I粒子对LAC细胞系的直接抑制作用。从机制角度分析,这种抑制作用可能涉及复杂的生物学过程,如 $\gamma$ 射线可直接引起DNA损伤,从而导致细胞周期阻滞,进一步抑制了细胞的活力。特别值得关注的是,克隆形成能力的显著抑制提示<sup>125</sup>I粒子可能靶向了肿瘤干细胞样群体,这为解释其持久的抗肿瘤效果提供了新线索。

#### [基金项目]

河北省政府资助临床医学优秀人才项目;河北省医学科学研究课题计划项目(20210247;20221335);2024年承德市应用技术与开发暨可持续发展议程创新示范区专项科技计划项目(202404B009)。

#### [参考文献]

- [1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3): 229–63.
- [2] MAJEED U, MANOCHAKIAN R, ZHAO Y, et al. Targeted therapy in advanced non-small cell lung cancer: current advances and future trends[J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 108.
- [3] CHEN P, LIU Y, WEN Y, et al. Non-small cell lung cancer in China[J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2022, 42(10): 937–70.
- [4] LIU X, YU Y, WANG M, et al. The mortality of lung cancer attributable to smoking among adults in China and the United States during 1990–2017[J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2020, 40(11): 611–9.
- [5] CHEN E, ZHANG Y, ZHANG H, et al. Dosimetry study of three-dimensional print template for <sup>125</sup>I implantation therapy[J]. *Radiat Oncol*, 2021, 16(1): 115.
- [6] JIA S N, WEN F X, GONG T T, et al. A review on the efficacy and safety of iodine-125 seed implantation in unresectable pancreatic cancers[J]. *Int J Radiat Biol*, 2020, 96(3): 383–9.
- [7] CHEN C, WANG W, YU Z, et al. Combination of computed tomography-guided iodine-125 brachytherapy and bronchial

arterial chemoembolization for locally advanced stage III non-small cell lung cancer after failure of concurrent chemoradiotherapy[J]. *Lung Cancer*, 2020, 146: 290–6.

[8] LI Q, TIAN Y, YANG D, et al. Permanent Iodine-125 Seed Implantation for the Treatment of Nonresectable Retroperitoneal Malignant Tumors[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2019, 18: 1533033819825845.

[9] WANG C, LI T K, ZENG C H, et al. Iodine-125 seed radiation induces ROS-mediated apoptosis, autophagy and paraptosis in human esophageal squamous cell carcinoma cells [J]. *Oncol Rep*, 2020, 43(6): 2028–44.

[10] AIRD E G, FOLKARD M, MAYES C R, et al. A purpose-built iodine-125 irradiation plaque for low dose rate low energy irradiation of cell lines in vitro[J]. *Br J Radiol*, 2001, 74(877): 56–61.

[11] SONG C, LIU W, WAN Y, et al. Editorial: Immunotherapy and multimodality therapy for lung cancer [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1372513.

[12] ZHANG C, ZIRONDA A, VIERKANT R A, et al. Quality of Life and Gastrointestinal Symptoms in Long-term Survivors of Pancreatic Cancer Following Pancreatoduodenectomy[J]. *Ann Surg*, 2024, 279(5): 842–9.

[13] VOISIN A, TERRET C, SCHIFFLER C, et al. Xevinapant Combined with Pembrolizumab in Patients with Advanced, Pretreated, Colorectal and Pancreatic Cancer: Results of the Phase Ib/II CATRIPCA Trial[J]. *Clin Cancer Res*, 2024, 30(10): 2111–20.

[14] LIU X, TAO Y, YANG B, et al. A novel X-Ray and gamma-Ray combination strategy for potential dose escalation in patients with locally advanced pancreatic cancer[J]. *Med Phys*, 2023, 50(3): 1855–64.

[15] XING L, LV L, REN J, et al. Advances in targeted therapy for pancreatic cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 168: 115717.

[16] ZHANG T, MO Z, DUAN G, et al. <sup>125</sup>I Seed Promotes Apoptosis in Non-small Lung Cancer Cells via the p38 MAPK-MDM2-p53 Signaling Pathway[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 582511.

[17] HU P, LIN L, HUANG T, et al. Circular RNA circEYA3 promotes the radiation resistance of hepatocellular carcinoma via the IGF2BP2/DTX3L axis[J]. *Cancer Cell Int*, 2023, 23(1): 308.

[18] LUO J, ZHENG J, YAO H, et al. Radioactive (<sup>125</sup>I) Seed Inhibits Cell Migration and Invasion and Promotes Apoptosis by Inactivating the VEGFR2 Signaling Pathway in Cholangiocarcinoma[J]. *Dose Response*, 2023, 21(3): 15593258231187348.

#### 作者简介:

徐海兰(1994—),女,汉族,江西上饶人,硕士,初级职称,研究方向:肺癌。

#### \*通讯作者:

张力(1972—),男,汉族,河北承德人,硕士研究生,主任医师,研究方向:肺癌胰腺癌基础与临床。