

文章编号: 1007-4627(2019)03-0373-06

氧化钆纳米粒子对 A549 肺癌细胞的辐射增敏效应研究

李翡翡^{1,2}, 李子厚^{2,3}, 金晓东¹, 吴爱国³, 陈卫强^{1,†}, 李强^{1,†}

1. 中国科学院近代物理研究所, 中国科学院重离子束辐射生物医学重点实验室, 甘肃省重离子束辐射医学应用基础重点实验室, 兰州 730000;
2. 中国科学院大学核科学与技术学院, 北京 100049;
3. 中国科学院宁波材料技术与工程研究所, 浙江 宁波 315201)

摘要: 采用氧化钆纳米粒子 (GON), 研究钆基纳米粒子对 X 射线和碳离子束的辐射增敏效应。首先, 通过透射电镜观察材料粒径, 使用 DLS 检测材料的水合半径及 Zeta 电位, 并用紫外吸收谱证实 GON 在培养基中稳定性较好; 研究发现钆 (Gd) 浓度为 10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 GON 对 30 keV/ μm 碳离子束辐照水溶液产生的羟自由基的增强系数为 1.13; GON 对 A549 肺癌细胞和正常 MRC-5 肺细胞没有明显的毒性, 且在人肺癌 A549 细胞中的摄取量随共培养浓度的增加而增加, 在 10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 共培养浓度下, 细胞摄入 Gd 的量为 0.73 pg/cell; 进一步采用克隆存活实验证明, GON 的加入对 X 射线和碳离子辐照 A549 细胞所产生的损伤具有明显的增强, 在 10% 的细胞存活水平下, GON 对 A549 细胞在 X 射线及碳离子辐照下的辐射增敏分别达 15.5% 和 10.1%。鉴于钆材料常被用于磁共振成像 (MRI), 所获得的 GON 有望作为 X 射线和碳离子的诊疗一体化材料。

关键词: 氧化钆纳米粒子; 人肺癌 A549 细胞; 辐射增敏效应

中图分类号: Q691 **文献标志码:** A **DOI:** 10.11804/NuclPhysRev.36.03.373

1 引言

癌症在全世界具有较高的发病率和死亡率, 每年有超过 1800 万新发病例和 960 万死亡病例; 肺癌包括非小细胞肺癌 (NSCLC) 和小细胞肺癌 (SCLC), 是最常见和致命的癌症, 发病率和死亡率均占所有恶性肿瘤的第一位, 每年因肺癌死亡的人数约占癌症死亡人数 18.4%^[1]。临床放射治疗是一种公认的、无创性治疗多种癌症的方法, 可用于癌症的早期治疗和缓解晚期或转移性病灶带来的痛苦。虽然放射治疗对多数肿瘤的治疗效果很好, 但是对肺癌治疗的效果很不理想, 五年生存率仅为 15%^[2]。由于肺和心脏是人体的关键器官, 肺癌治疗剂量受心脏和正常肺的耐受剂量影响, 往往导致肺癌治疗失败。如何提高同等物理剂量辐照下靶区的生物有效剂量沉积, 是肺癌治疗的关键问题。

随着研究的深入, 使用放疗增敏剂可以提高肿瘤细胞对放疗的敏感性。X-射线等电离辐射在辐照高原子序数材料时产生的俄歇电子与原子序数的四次方成

正比, 因此, 基于高原子序数金属的纳米粒子作为电离辐射增敏材料越来越倍受关注^[3-4]。因为金的原子序数是 79, 金纳米粒子 (GNP) 具有尺寸小、分散性好、稳定性强和良好的生物相容性等特点^[5], 金纳米粒子是最早用于辐射增敏研究的金属纳米粒子^[6-7], 也是目前研究最多的纳米粒子^[8-11]。除此之外, 钆材料作为一种 T1 增强的临床磁共振成像材料对软组织具有高分辨的清晰成像, 钆基纳米粒子可以用作电离辐射的增敏材料, 对 X 射线和粒子束辐照均有增强^[12-16], 目前已有一种钆纳米材料 AGuIX 进入临床试验 (临床试验号 NCT02820454)^[17]。

在前期研究中, 我们发现氧化钆纳米粒子 (GON) 在乳腺癌 MCF-7 细胞中具有很好的生物相容性^[18]。在已有研究的基础上, 本文首先研究 GON 浓度对电离辐照水溶液自由基产额的影响, 在考察 GON 浓度对 A549 细胞的细胞毒性和细胞内摄入 Gd 浓度的影响后, 进一步研究 GON 预处理对 X 射线和碳离子照射下 A549 细胞存活的影响, 证明 GON 对电离辐射的增敏效应。

收稿日期: 2018-10-19; 修改日期: 2019-02-27

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2017YFC0107500); 甘肃省重大科技专项项目 (1602FKDA005); 中国科学院重离子束辐射生物医学重点实验室开放基金 (2016-01)

作者简介: 李翡翡 (1990-), 女, 甘肃静宁人, 博士研究生, 从事重离子放射生物学基础研究; E-mail: lff0406@hotmail.com

† 通信作者: 陈卫强, E-mail: chenwq7315@impcas.ac.cn; 李强, E-mail: liqiang@impcas.ac.cn.

2 材料与方法

2.1 材料与仪器

GON 根据文献[18]的方法合成, 18.25 Ω 超纯水由超纯水系统制成(购买自中国香港 Heal Force 公司), 六水合硝酸钆($\text{Gd}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 99%)和二甘醇(均购买自中国上海阿拉丁试剂公司); 人肺癌 A549 细胞系(购买自中国科学院上海细胞库); 改良型 1640 培养基、青霉素(100 U/mL)、链霉素(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)和胎牛血清(均购买于美国 Hyclone 公司); 培养瓶和直径 35 mm、60 mm 的培养皿(均购买自美国 CORNING 公司); 96 孔板、Multiskan Spectrum 全波长酶标仪(均购买于美国 Thermo 公司); 二甲基亚砜(DMSO, 99.9%, 购买自美国 Sigma-Aldrich 公司); CCK-8 试剂盒(购买自日本同仁公司); 香豆素-3-羧酸(3-CCA, 97%, 购买自中国北京 J&K 化学公司); 透射电子显微镜(购买自日本 JEOL 公司)、等离子体电感耦合原子发射光谱仪(ICP-AES, 购买自美国 BD 公司)、Zeta 粒度分析仪(购买自英国 Nano-ZS 公司)。

2.2 GON 的表征

为了获知 GON 的结构、形态等特征, 将 1 μL 稀释后的 GON 溶液滴于经碳膜包被的铜网中, 室温晾干后在透射电子显微镜(检测电压为 200 kV)下观察, 并拍摄高分辨的透射电子显微成像照片。室温下, 经 Zeta 粒度分析仪检测了 GON 的水合半径和 Zeta 电位。

2.3 紫外可见光吸收光谱测定

分别取 200 μL 的 GON 溶液加入 96 孔板中, 利用酶标仪扫描光谱曲线(200~900 nm): 波长步进设为 2 nm, 每个样品均扫描 3 次; 以扫描波长为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 以 3 次吸光度值的平均值得到样品的最终紫外-可见光吸收光谱数据。

2.4 受 X 射线和碳离子辐照后 GON 水溶液的羟自由基增强效应

称取 38.0 mg 3-CCA, 将其溶于 10 mL PBS 中, 超声 20 min 使 3-CCA 充分溶解, 加入 14 μL DMSO 并过滤备用。用超纯水将 GON 配制成相应 Gd 浓度(0, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的等渗溶液, 并分别分装到直径为 35 mm 的培养皿中(1 mL/皿); 用 50 kVp 的 X 射线(0.57 Gy/min)和传能线密度(LET)为 30 keV/ μm 碳离子束(辐照实验在兰州重离子研究装置(HIRFL)的浅层治癌终端上完成, 辐照能量为 86 MeV/u, 剂量率约为 2.0 Gy/min)分别照射 2 Gy; 之后将培养皿中照射后的溶液转移至离心管中, 离心(12000 rpm, 20

min)取出上清液, 于 96 孔板中每孔加入 150 μL ; 并设置酶标仪中激发光和发射光分别为 395 nm 和 442 nm, 检测其荧光强度。

2.5 细胞培养

人肺癌 A549 细胞在改良型 1640 培养基(含有体积分数 10% 胎牛血清、100 U/mL 的青霉素和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的链霉素)中培养, 培养箱中湿度饱和、温度设定 37 $^{\circ}\text{C}$ 、 CO_2 质量分数为 5%; 培养期间使用含 0.25% EDTA 的胰酶进行传代消化; 使用处于对数生长期、生长旺盛的 A549 细胞开展实验。

2.6 细胞毒性检测

采用 CCK-8 试剂盒检测 GON 对细胞活性的影响。将 A549 细胞接种到 96 孔板中(10000 个细胞/孔), 贴壁培养 24 h; 分别加入 0~50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 GON 孵育 24 h; 弃去含 GON 培养基, 使用 PBS 缓缓清洗 2 次, 加入含 CCK-8 的培养基, 轻微震荡均匀后避光培养; 并用酶标仪在 450 nm 处检测吸光度值(OD)。根据以下公式计算细胞增殖活力:

$$\text{增殖活力} = \left(\frac{\text{实验组 OD 值} - \text{调零组 OD 值}}{\text{对照组 OD 值} - \text{调零组 OD 值}} \right) \times 100\%。$$

2.7 A549 细胞中 Gd 的平均摄取量检测

将 A549 细胞接种到培养瓶中(3×10^6 个细胞/瓶)培养 24 h 后, 分别加入钆(Gd)浓度为 0.5, 5, 10, 15 和 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 GON; 共培养 24 h 后, 弃去含 GON 的培养基, 酶解成细胞悬液、并计算总细胞数; 超声裂解细胞后, 12000 rpm, 离心 25 min; 弃去上清液, 烘干后取出, 待冷却至室温后加入“王水”(盐酸: 硝酸=3:1, v/v)进行离子化, 用 ICP-AES 测量溶液中 Gd 的含量; 并用测得的 Gd 含量除以总细胞数量, 即为 Gd 的平均细胞摄取量。

2.8 细胞克隆存活实验

将 A549 细胞接种到直径为 35 mm 的培养皿中(10000 个细胞/皿), 培养 24 h 后加入 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 GON 共培养 24 h; 然后弃去 GON, 用 X 射线(50 kVp, 剂量率 0.57 Gy/min)和碳离子束(LET 50 keV/ μm , 剂量率 0.2 Gy/min)分别照射 0, 1, 2, 4 和 6 Gy; 将照射后的细胞消化为细胞悬液、计数并接种到直径为 60 mm 的培养皿中。培养两周后, 用结晶紫染色 30 min, 在倒置显微镜下观察并计算克隆数量, 超过 50 个细胞的细胞集落认为是一个克隆存活细胞。用对照组的克隆数目除以接种的细胞数, 可得到每个培养皿中细胞的存活率(SF); 用辐照组的细胞存活率除以

对照组的细胞存活率, 即为某一剂量的细胞存活率。

3 结果

3.1 GON 的特征

多元醇法合成的 GON 直径约为 1.4 nm 左右^[18]。从图 1(a) 中高分辨透射电子显微成像照片可知,

GON 是由珍珠项链状的晶格所组成的, 且具有相等的晶面间距。GON 水合半径约为 8.567 nm, zeta 电位约为 55.5 mV(图 1(b), (c)); 此外, 无论将不同浓度的 GON 在培养基中孵育 24 h 后检测 200~900 nm 的紫外吸收光谱(图 1(d)), 还是将 10 μg/mL 的 GON 在培养基中孵育不同时间, 并检测紫外吸光度值[图 1(e)], 均发现 GON 在培养基中的稳定性较好。

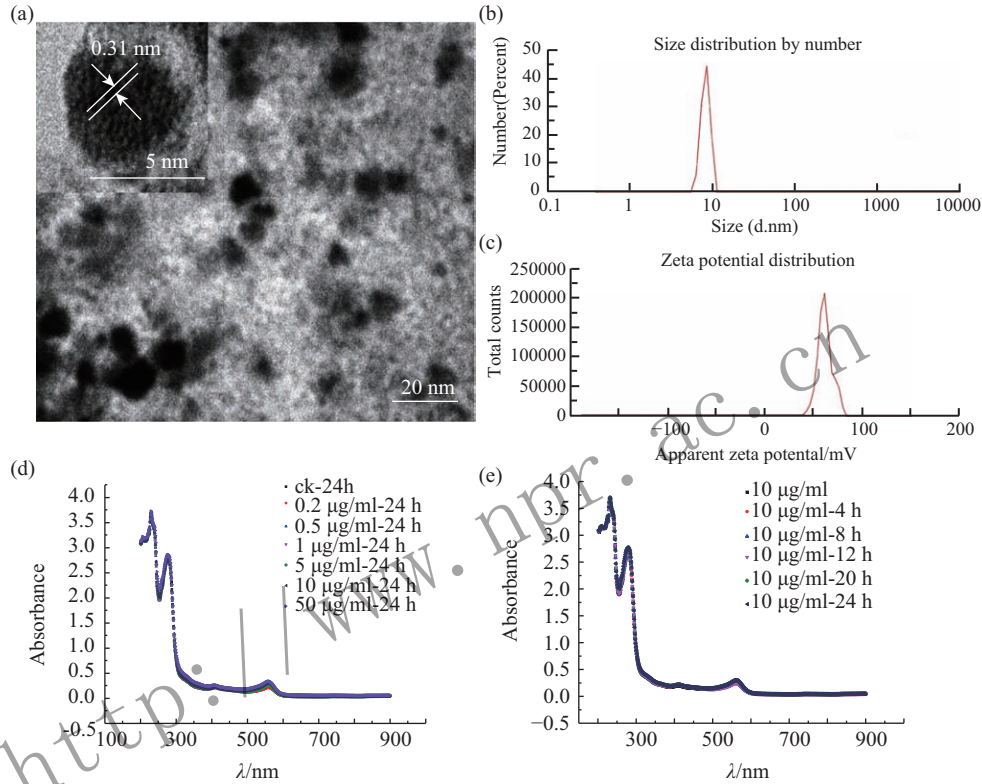


图 1 (在线彩图) GON 的表征

(a) 透射电镜及高分辨透射电镜成像图片; (b) DLS 检测水合半径; (c) Zeta 电位检测报告; (d, e) 200~900 nm 紫外可见光谱图。其中 (d) 不同浓度的 GON 在培养基中孵育 24 h 后检测结果, (e) Gd 浓度为 10 μg/mL 的 GON 在培养基中孵育不同时间后检测所得。

3.2 水中 GON 的羟自由基辐射增强效应

Gd 浓度为 0~10 μg/mL 的 GON 水溶液经 X 射线辐照后, 其产生的羟自由基产量可以用生成的 7-羟基-香豆素-3-羧酸 (3-CCA) 的荧光变化来表征。通过酶标仪检测 442 nm 荧光变化值, X-射线辐照后 GON 对水中的羟自由基产额的增敏比可以用公式 $ER = \Delta X_i / \Delta X_0$ 来计算, 其中 ΔX_i 指某剂量下加 GON、且辐照后的荧光强度变化, ΔX_0 指某剂量下未加 GON、仅辐照后的荧光强度变化。结果如图 2 所示: 当添加了 0~10 μg/mL 的 GON 后, 水溶液经 2.0 Gy X-射线和碳离子辐照后产生的羟自由基产额增强率分别为 0.94~1.05 和 0.22~1.13 倍。结果表明, 在加入 10 μg/mL GON 水溶液中, X 射线和碳离子辐照产生的自

由基产额均有所增加。

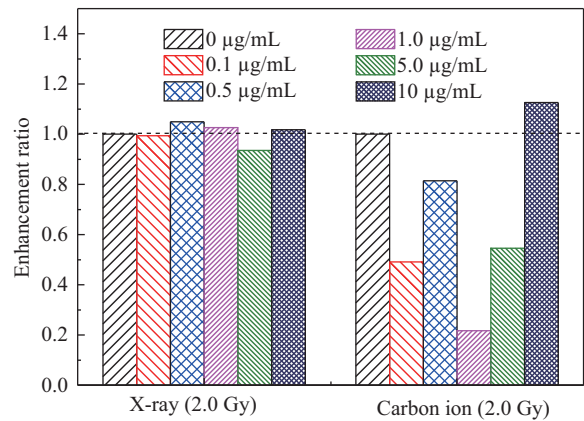


图 2 (在线彩图) GON 的水溶液经 X 射线和碳离子辐照后的羟自由基产额增强比

3.3 GON 对 A549 细胞的毒性

采用 CCK-8 试剂盒进行细胞活力的检测，在 Gd 浓度为 0~50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内，GON 与 A549 细胞共培养 24 h 后，细胞仍保持较高的存活率；相对正常细胞 MRC-5 细胞而言，经 GON 孵育 24 h 后，A549 细胞的活性发生轻微的增强。(如图 3 所示)。实验结果表明，Gd 浓度为 0~50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 GON 的加入对 A549 肺癌细胞和 MRC-5 正常肺细胞无明显毒性。

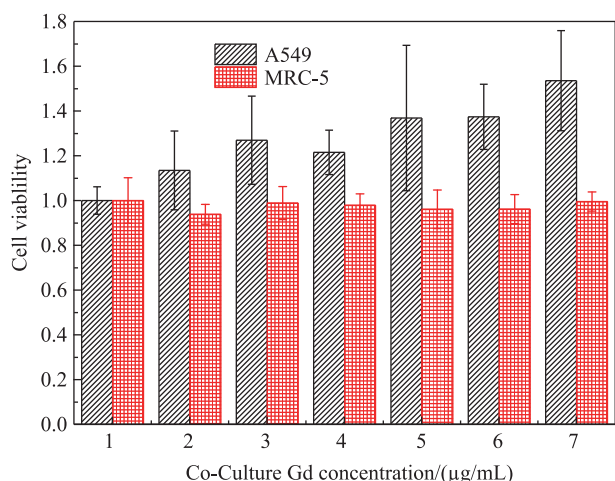


图 3 (在线彩图) 不同浓度的 GON 分别与 A549 和 MRC-5 细胞共培养 24 h 后的细胞活性图

3.4 GON 在 A549 细胞中的摄取量

实验进一步探究了 A549 细胞内摄入的 Gd 浓度，由图 4 可知：当 GON(Gd 浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 与细胞共培养 24 h 后，经 ICP-AES 测量得到 A549 细胞中 Gd 的摄入浓度达到 0.73 pg/cell (若 1×10^9 细胞为 1 g，则细胞内 Gd 的浓度为 728.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)；Gd 在 A549 细胞内的摄入浓度与培养基中的孵育浓度呈线性正相关，GON 与细胞共培养是一个 Gd 富集的过程。

3.5 GON 对 A549 细胞的辐射增敏效应

如图 5 所示，与对照组相比，10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 GON 在各个剂量点处的细胞存活率更低，且差异随着辐射

剂量的增加越来越明显。GON 对 A549 细胞的辐射增敏效应如图 5 中线性平方(LQ)模型拟合的存活曲线所示，经计算发现，在 $SF=10\%$ 和 50% 时，X 射线辐照下 GON 对 A549 细胞的放射增敏分别为 1.16 和 1.31，而碳离子辐照下 GON 对 A549 细胞的放射增敏分别为 1.10 和 1.11 (见表 1)。

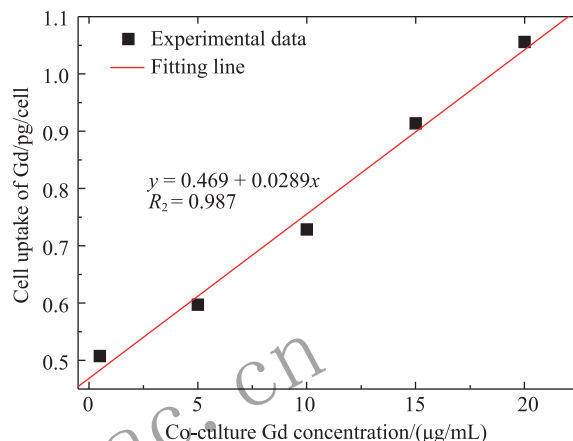


图 4 (在线彩图) 不同浓度的 GON 与 A549 细胞共培养 24 h 后的细胞 Gd 摄取量曲线

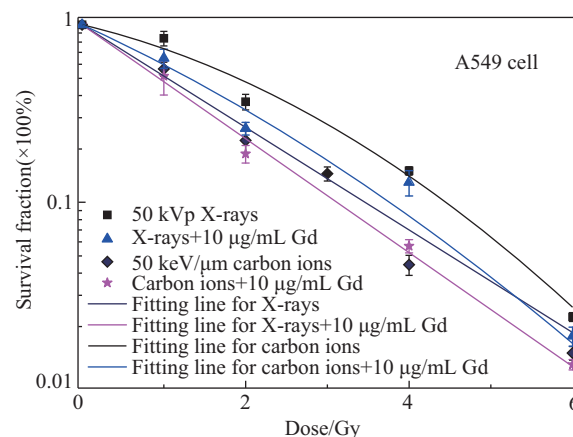


图 5 (在线彩图) 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ GON 对受 X 射线和碳离子辐照的 A549 细胞存活率的影响

表 1 X-射线和碳离子辐照下的 LQ 模型中 α , β , R^2 , D_{SF10} , D_{SF50} 参数和 GON 的辐射增敏比*

辐照条件	Gd 浓度/ $(\mu\text{g}/\text{mL})$	α/Gy^{-1}	β/Gy^{-2}	R^2	D_{SF10}/Gy	D_{SF50}/Gy
X 射线	0	0.251	0.06	0.96	4.46	1.90
	10.0	0.483	0.034	0.98	3.77	1.32
	辐射增敏比				1.16	1.31
碳离子	0	0.665	0	0.99	3.46 (RBE1.29)	1.05 (RBE1.81)
	10.0	0.738	0	0.99	3.11	0.944
	辐射增敏比				1.10	1.11

* α , β 和 R^2 分别为 LQ 模型的线性系数，线性平方系数和决定系数； D_{SF10} 和 D_{SF50} 分别代表细胞存活率为 10% 和 50% 时所需的辐照剂量。

4 讨论与结论

Gd($Z=64$)属于高原子序数材料,钆基纳米粒子电子密度高,因此,电离辐射含有钆基纳米粒子的水溶液时,除了电离辐射与水相互作用会导致水分子的电离和二次电子发射外,入射粒子和二次电子与Gd的相互作用还将导致钆基纳米粒子周围几纳米范围内电子发射增加,释放出来的电子进一步解离水分子导致水中氧化物ROS增加。通过占ROS主要地位的羟基自由基的测量可以直接反映出Gd对电离辐射的增敏效应。因此,在获得GON后,我们首先通过X-射线辐照GON水溶液中自由基的变化,考察GON的辐射剂量增敏系数;Gd浓度不同,X-射线辐射产生的自由基产额不同,其中Gd浓度为10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的GON溶液在2 Gy X射线和重离子辐照下自由基产额均有增强。进一步以此浓度为细胞共培养浓度,开展了X-射线和碳离子辐照A549细胞的克隆存活实验,证明Gd浓度为10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的GON具有明显的增敏效应。

钆基纳米粒子对电离辐射细胞的增敏机制复杂,从现有数据可知,在10%细胞存活水平下,Gd对X射线和碳离子的增敏效率在15%和10%左右,这个数据与自由基产生的增敏比1.13的结果比较相近。此外,将本文所使用的GON与已经应用于临床试验探究的AGuIX相比,发现:材料均是超小粒径($<5\text{ nm}$),易于通过肾脏代谢,避免长期滞留在体内产生毒性;不同之处在于AGuIX对受重离子辐照的A549细胞的辐射增敏比($\text{SER}_{10\%}$ 和 $\text{SER}_{50\%}$ 均约为1.14)略高,仍需通过促进细胞内Gd摄入等方法,提升GON的增敏作用。由于在A549细胞中Gd的浓度(728.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)远高于水溶液中Gd的浓度10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$,在细胞水平Gd对电离辐射的增敏更多可能来自于对细胞周期阻滞、DNA双链断裂、线粒体途径、细胞凋亡通路等的影响,这有待进一步的深入研究探索。

在探究GON对细胞活性的影响时,实验发现一个有趣的现象:经GON孵育24 h后,A549细胞的活性发生轻微的增强。已有研究表明,纳米材料与生物界面的相互作用是非常复杂的,纳米材料的毒性与其结构、理化特征,纳米粒子的动力学以及相互作用的生物分子的分子特征等均息息相关^[19];如:纳米粒子与蛋白或脂质的相互作用能增强生物相容性^[20];纳米材料的表面修饰同样也会影响细胞毒性。此外,Ma等^[18]和Miladi等^[21]的研究中孵育钆基纳米材料的肿瘤细胞其活性也发生轻微的增强;这一现象也存在于孵育了金、银纳米粒子^[22-23]、氧化钛^[24]和氧化铈^[25]等纳

米材料的多种肿瘤细胞系中。与本文实验结果相近,Ma等^[18]研究也发现所得的GON在血清、培养基和细胞内有很高的稳定性,且被细胞摄入后,主要存在于细胞质中;因此,我们认为GON细胞毒性低,具有较好的生物相容性。

总的来说,GON细胞毒性小、增敏效应明显;结合Gd材料本身可以作为磁共振成像T1对比剂;因而,此钆基纳米粒子可用作X-射线和碳离子辐照中的诊疗一体材料。

参考文献:

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, *et al.* *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2018, **68**: 394.
- [2] PISTERS K M, EVANS W K, AZZOLI C G, *et al.* *Journal of Clinical Oncology*, 2007, **25**: 5506.
- [3] BUTTERWORTH K T, MCMAHON S J, CURRELL F J, *et al.* *Nanoscale*, 2012, **4**: 4830.
- [4] COULTER J A, HYLAND W B, NICOL J, *et al.* *Clinical Oncology*, 2013, **25**: 593.
- [5] JEREMIC B, AGUERRI A R, FILIPOVIC N. *Clinical and Translational Oncology*, 2013, **15**(8): 593.
- [6] HEROLD D M, DAS I J, STOBBE C C, *et al.* *International Journal of Radiation Biology*, 2000, **76**: 1357.
- [7] HAINFELD J F, SLATKIN D N, SMILOWWIT H M Z. *Physics in Medicine and Biology*, 2004, **49**: N309.
- [8] SCHUEMANN J, BERBECO R, CJITHRANI D B, *et al.* *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 2016, **94**: 189.
- [9] SHRESTHA S, COOPER L N, ANDREEV O A, *et al.* *Jacobs journal of radiation oncology*, 2016, **3**(1): 026.
- [10] LIU Y, ZHANG P C, LI F F, *et al.* *Theranostics*, 2018, **8**(7): 1824.
- [11] LIU X, LIU Y, ZHANG P C, *et al.* *International Journal of Nanomedicine*, 2016, **11**: 3517.
- [12] TAUPIN F, FLAENDER M, DELORME R, *et al.* *Physics in Medicine and Biology*, 2015, **60**: 4449.
- [13] KOTB S, DETAPPE A, LUX F, *et al.* *Theranostics*, 2016, **6**: 418.
- [14] LUX F, SANCEY L, BIANCHI A, *et al.* *Nanomedicine*, 2015, **10**: 1801.
- [15] PORCEL E, TILLEMENT O, LUX F, *et al.* *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 2014, **10**: 1601.
- [16] LUCHETTE M, KORIDECK H, MAKIGIORGOS M, *et al.* *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2014, **10**: 1751.
- [17] Radiosensitization of Multiple Brain Metastases Using AGuIX Gadolinium Based Nanoparticles [EB/OL].[2018-09-15] <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02820454?term=NCT02820454&rank=1>.
- [18] MA X H, GONG A, XIANG L C, *et al.* *Journal of Material Chemistry B*, 2013, **1**: 3419.

- [19] YANAMALA N, KAGAN V E, SHVEDOVA A A. *Adv Drug Deliver Rev*, 2013, **65**(15): 2070.
- [20] YANG S T, LIU Y, WANG Y W, *et al.* *Small*, 2013, **9**(9-10): 1635.
- [21] MILADI I, ALOY M T, ARMANDY E, *et al.* *Nanomedicine-Uk*, 2015, **11**(1): 247.
- [22] ZHAO X, QI T, KONG C, *et al.* *Int J Nanomedicine*, 2018, **13**: 6413.
- [23] NICOL J R, HARRISON E, O'NEILL S M, *et al.* *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2018, **14**(2): 439.
- [24] YOUKHANA E Q, FELTIS B, BLENCOWE A, *et al.* *International Journal of Medical Sciences*, 2017, **14**(6): 602.
- [25] DU F, LOU J, JIANG R, *et al.* *Int J Nanomedicine* 2017, **12**: 5973.

Radiosensitizing Effect of Gadolinium Oxide Nanoparticles on Human Non-small Cell Lung Cancer A549 Cells

LI Feifei^{1,2}, LI Zihou^{2,3}, JIN Xiaodong¹, WU Aiguo³, CHEN Weiqiang^{1,†}, LI Qiang^{1,†}

(1. Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China; Key Laboratory of Heavy Ion Radiation Biology and Medicine of Chinese Academy of Sciences, Key Laboratory of Basic Research on Heavy Ion Radiation Application in Medicine, Gansu Province, Lanzhou 730000, China;

2. School of Nuclear Science and Technology, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

3. Key Laboratory of Magnetic Materials and Devices, Chinese Academy of Sciences, Division of Functional Materials and Nano Devices, Ningbo Institute of Materials Technology & Engineering, Chinese Academy of Sciences, Ningbo 315201, Zhejiang China)

Abstract: In this paper, the radiosensitizing effects of gadolinium based nanoparticles to X-ray and carbon ion beams were studied by using gadolinium oxide nanoparticles (GON). Firstly, the particle size of GON was measured by transmission electron microscopy, the hydration radius and Zeta potential of GON were measured by dynamic light scattering (DLS), and the stability of gadolinium nanoparticles in the medium was confirmed by ultraviolet absorption spectrum. It was found that GON with 10.0 $\mu\text{g/mL}$ gadolinium concentration enhanced the hydroxyl radical productivity by 1.13 times in aqueous solution under 30 keV/ μm carbon ion beam irradiation. In addition, GON had no obvious toxicity to A549 lung cancer cells and normal MRC-5 lung cells. The uptake of gadolinium in human lung cancer A549 cells enhanced with the increase of co-culture GON concentration, and the uptake of gadolinium was 0.73 pg/cell when the co-culture concentration of GON was 10.0 $\mu\text{g/mL}$. Most importantly, the radiosensitizing effect of GON on A549 cells irradiated with X-rays and carbon ions was assessed with the clonogenic survival assay. Our experimental results indicated that obviously radiosensitizing effect of GON on A549 cells was observed. The radiation enhancement ratio of GON on A549 cells exposed to X-rays and carbon ions was 15.5% and 10.1% at 10% survival level. Since gadolinium has been widely used for magnetic resonance imaging (MRI), the obtained GON is expected to be an ideal material for the diagnosis and treatment of cancer using X-ray and carbon ions radiotherapy.

Key words: Gadolinium oxide nanoparticles (GON); lung cancer cell A549; radiosensitizing effect

Received date: 19 Oct. 2018; **Revised date:** 27 Feb. 2019

Foundation item: National Key R&D Program (2017YFC0107500); Major Project of Gansu Provincial Science and Technology (1602FKDA005); CAS Key Laboratory of Heavy Ion Radiation Biology and Medicine, Institute of Modern Physics(2016-01)

† **Corresponding author:** CHEN Weiqiang, E-mail: chenwq7315@impcas.ac.cn; LI Qiang, E-mail: liqiang@impcas.ac.cn.