



中国科学技术大学

University of Science and Technology of China

基于DNA分子水平预测放射生物效应 的机制模型的研究及应用

答辩人：齐雅平 博士研究生

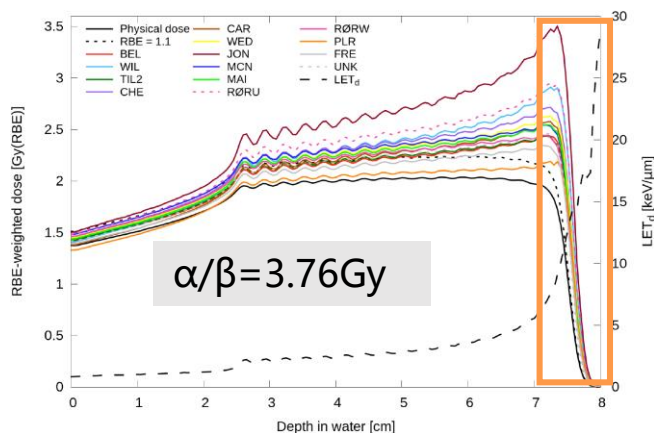
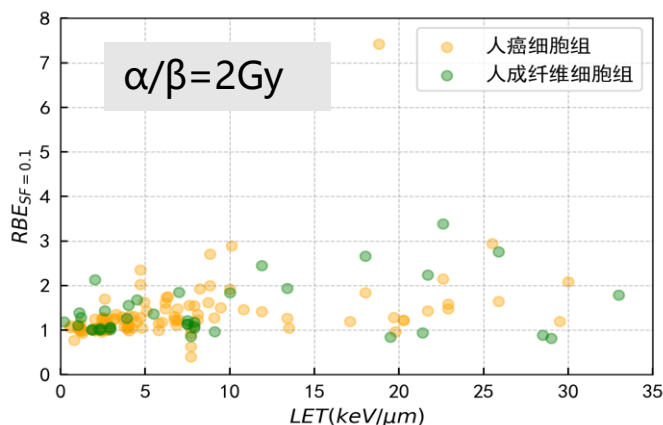
导 师：徐榭 教授 陈志 副教授

专 业：核科学与技术

时 间：2021年5月24日

相对生物效应(Relative Biological Effectiveness)

- 质子放疗临床RBE=1.1
- RBE值与多因素相关 (eg. 组织类型、生物学终点、剂量、LET、SOBP)
- 仅以细胞存活实验计算/现象学模型的RBE值差异很大
- 开始以测量DSB产额等终点预测可变RBE



**OAR内RBE
尤为重要!**

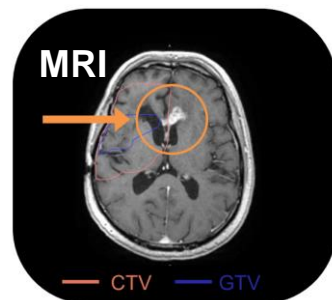


图1.7 0-88 keV/ μm 的LET 范围内测量RBE值, 不同现象学RBE在水中分布

辐射作用生物机体过程

- 早期反应和晚期反应
- 三个相互作用阶段
- 直接和间接DNA损伤

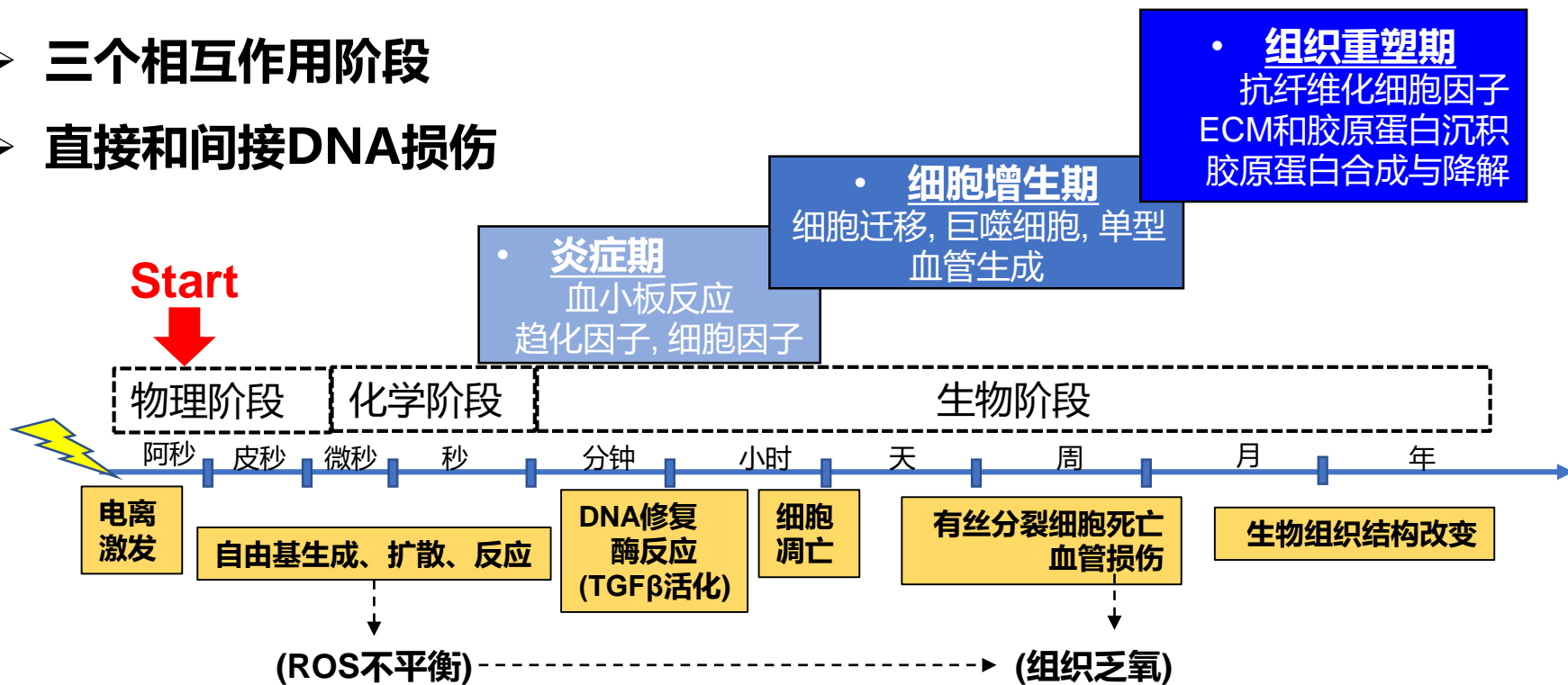
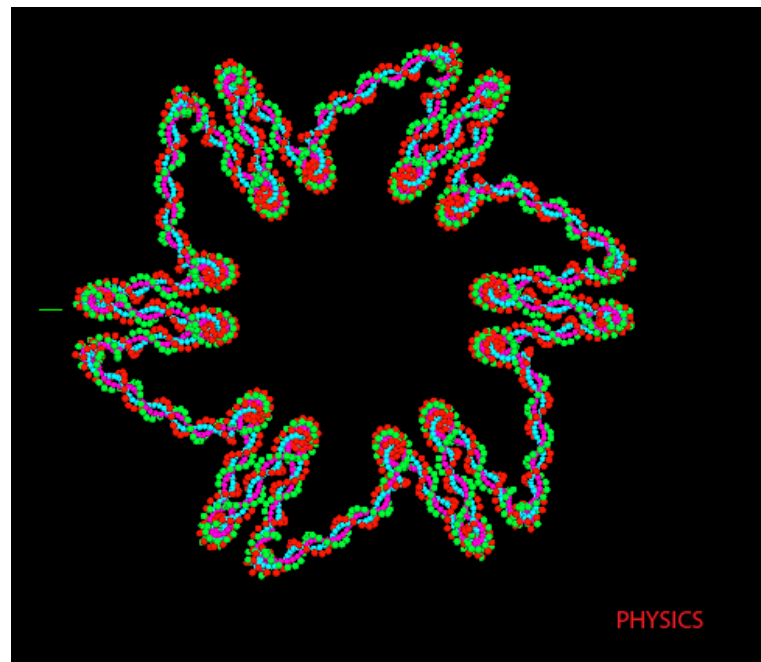


图1.2 辐照生物系统产生一系列反应过程

蒙特卡罗径迹结构法

- 蒙卡方法起源于原子能事业的发展
- 随机抽样法, 是计算数学的分支
- 真实地模拟粒子物理过程
- 两种方式
 - 浓缩历史法(Condense Historyeg)
eg. 剂量计算
 - 径迹结构法(Track Structure), 可追踪小靶(eg.DNA)每个粒子的输运径迹, 产生微纳剂量学



DNA损伤计算与分类

- 粒子在**液态水**中电离会形成**电离簇(cluster)**
- 在靶点沉积能量与DNA损伤相关
 - 电离阈值: $>17.5\text{eV} \rightarrow \text{SSB}$; 线性概率: $E(5-37.5\text{eV}) \rightarrow \text{SSB}$ 线性概率
- 损伤靶点在相反两条链且间距 $>3.2\text{ nm}$, 一个DSB
- 自由基损伤DNA主链概率约50%, 碱基损伤概率80%

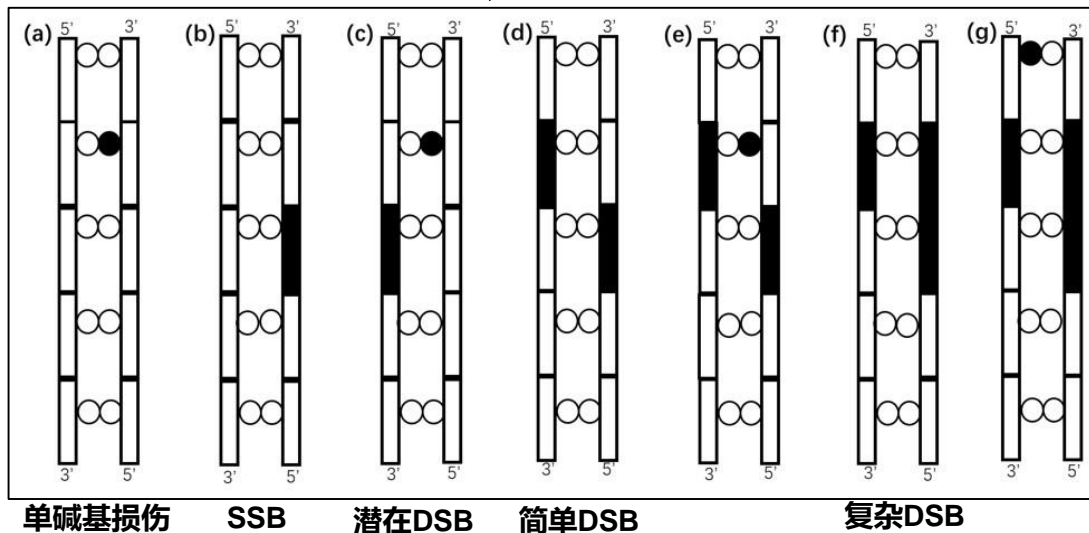
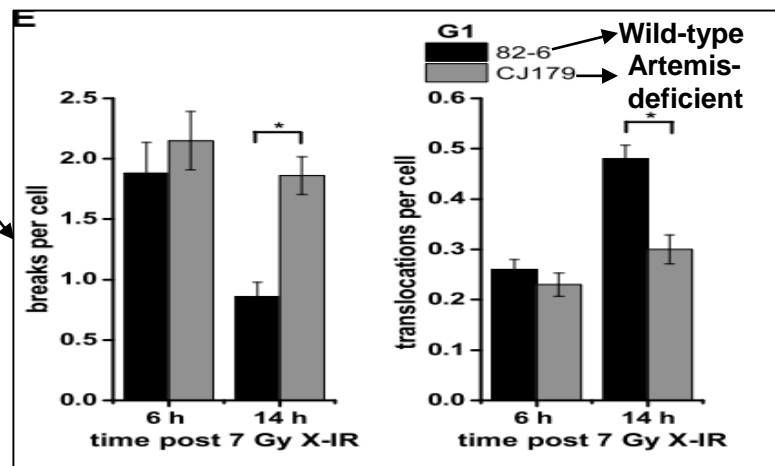
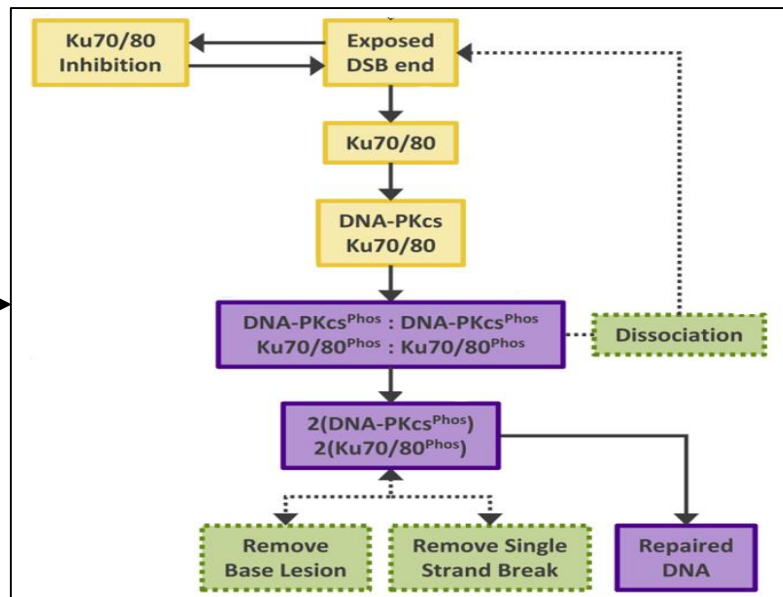


图2.4 DNA 损伤分类

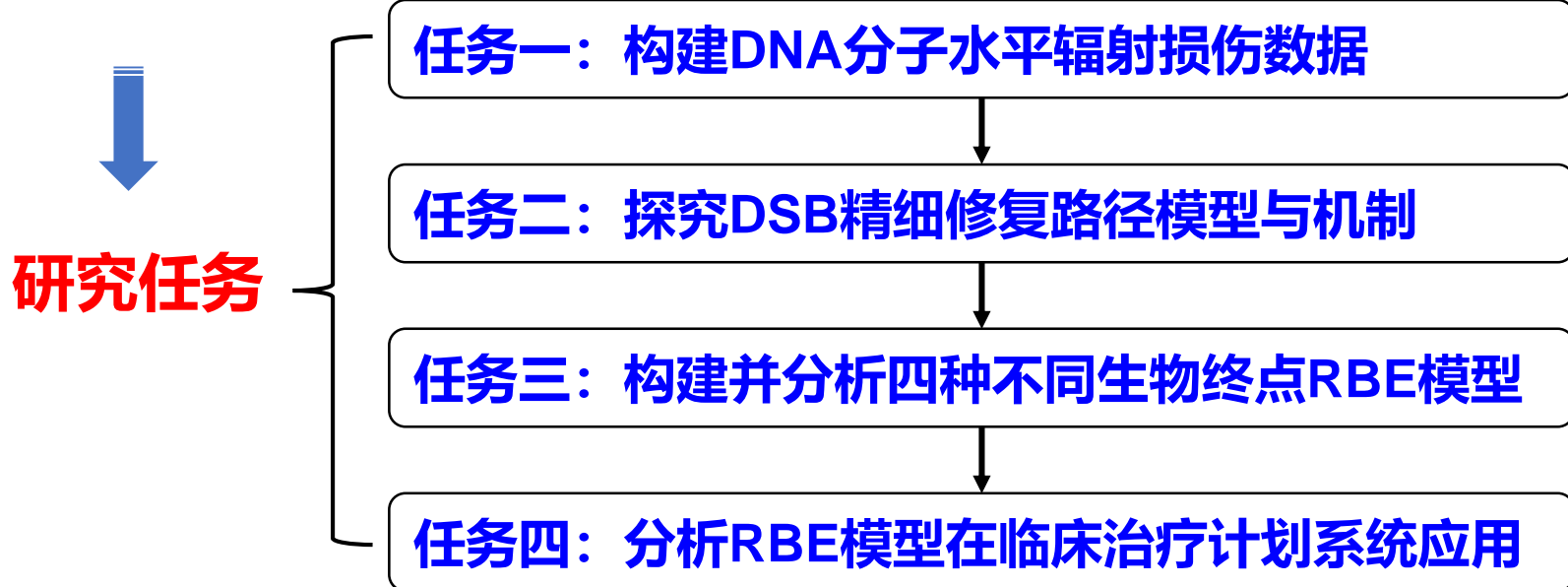
DNA-NHEJ修复

- 仅考虑Ku70/80&DNA-PKcs的NHEJ修复路径建模 [1]
- NHEJ是两相修复 [2]
 - 额外需要Artemis参与的**切除相关修复**(resection-dependent)
 - 与染色体易位、修复效果有关
 - **尚无建模研究**



目的：搭建辐射生物效应与辐射物理量之间的桥梁

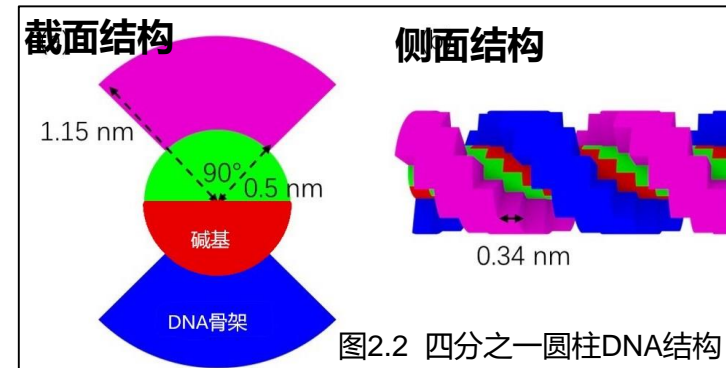
目标：基于蒙特卡罗径迹结构工具分别从DNA分子损伤和修复水平构建并分析不同生物终点的RBE预测机制模型，应用在放射治疗计划系统



1. DNA和细胞核模型

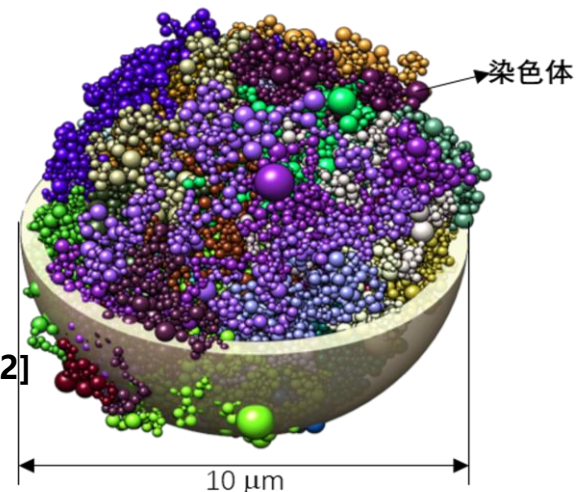
● DNA几何模型 [1]

- 一个完整螺旋包含10个碱基对 $\times 36^\circ$
- 每条链分配一个ID(1链或2链)



● 细胞核模型 - HiC

- 原型: 正常人类B型淋巴细胞GM12878
- 每个圆珠代表含有一定数量的DNA的染色体
- 数据来自实验测量染色体结构和基因组序列数据库 [2]



2. 辐射条件和模拟细节

➤ 60组单能质子, LET范围**0.5-30 keV/μm**, 对应能量**90.788-0.953 MeV**

➤ 辐射源随机放置在细胞核模型表面, 入射方向随机

➤ 统计沉积1 Gy剂量所需粒子数和辐射源面积:

$$r = 10^9 \sqrt{\frac{N \times L \times 10^{-10}}{\pi \times D \times \rho}}$$

r	辐射源半径(nm)
N	入射初级粒子数
L	初级粒子LET值(0.5-30 keV/μm)
D	所要求的物理吸收剂量(1 Gy)
ρ	DNA材料密度(1.407 g/cm ³)

➤ 尽量满足1 Gy剂量要求(模拟100次, SD < 2%)

➤ 默认物理列表: G4EmDNAPhysics

➤ 同时计算LET=0.2 keV/μm的钴-60辐射源(模拟200次, DSB产额遵循泊松分布 1 Gy~ 25DSB)

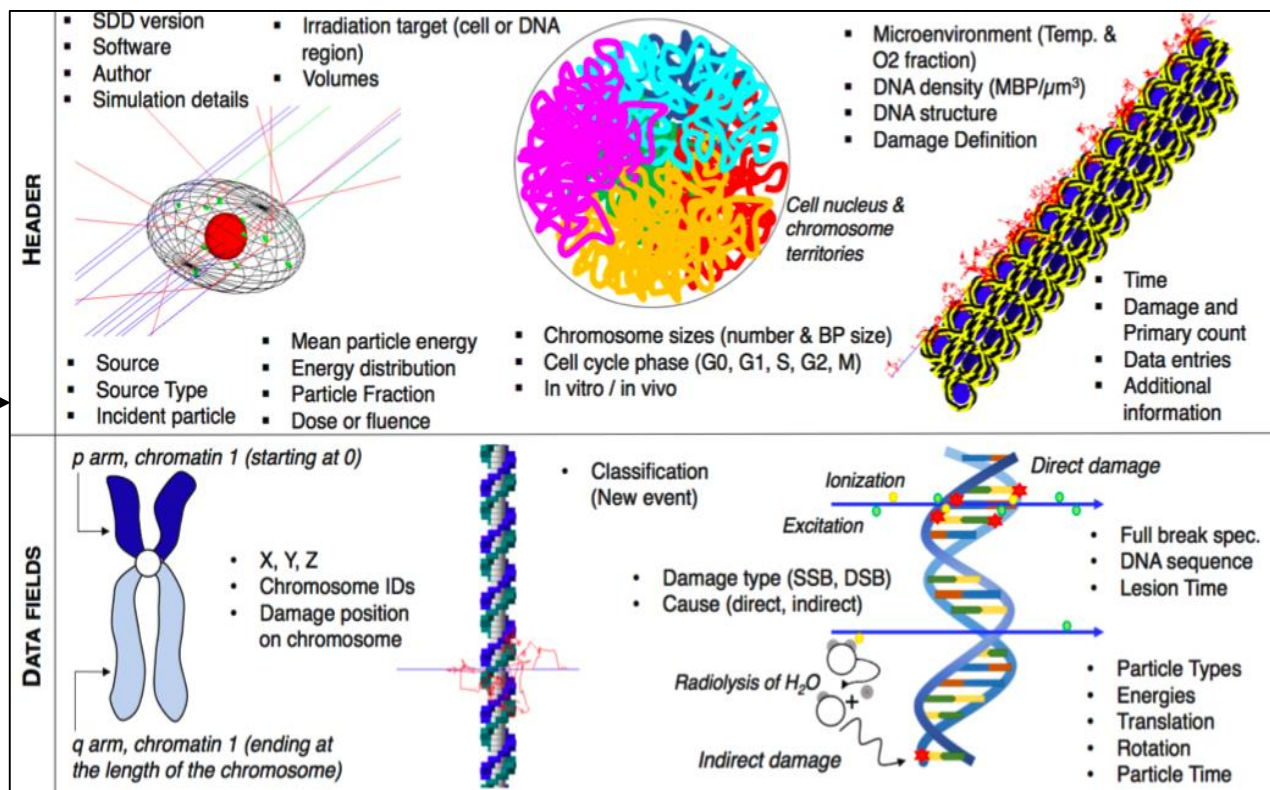
➤ CSF高性能计算集群(UoM)

3. DNA损伤定义及类型

● 直接DNA损伤（物理阶段）

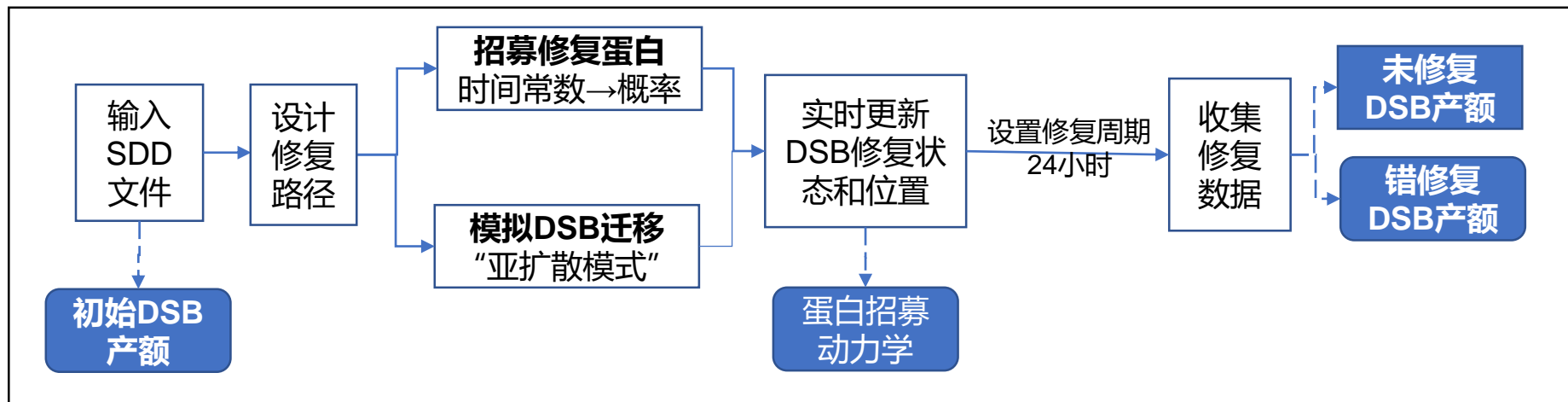
● 间接DNA损伤（化学阶段）

**SDD: 标准
DNA损伤文
件格式**



1. 建模步骤

- 输入DNA损伤文件
- 设计结合两相NHEJ精细修复路径
- 逐步设置修复蛋白招募时间常数、DSB末端运动模式和修复周期
- 用Python处理输出文件，统计修复行为相关结果，为验证作准备



2. NHEJ修复蛋白

➤ G0/G1期正常组织细胞修复

- Ku70/80: 识别损伤的DNA, 环状结
- DNA-PKcs: 自磷酸化激活蛋白活
- Artemis: 切除DSB末端多余链
- CtIP&EXO1: 初始化DSB末端切除相关过程
- XRCC4&XLF&LIG4: 连接DSB

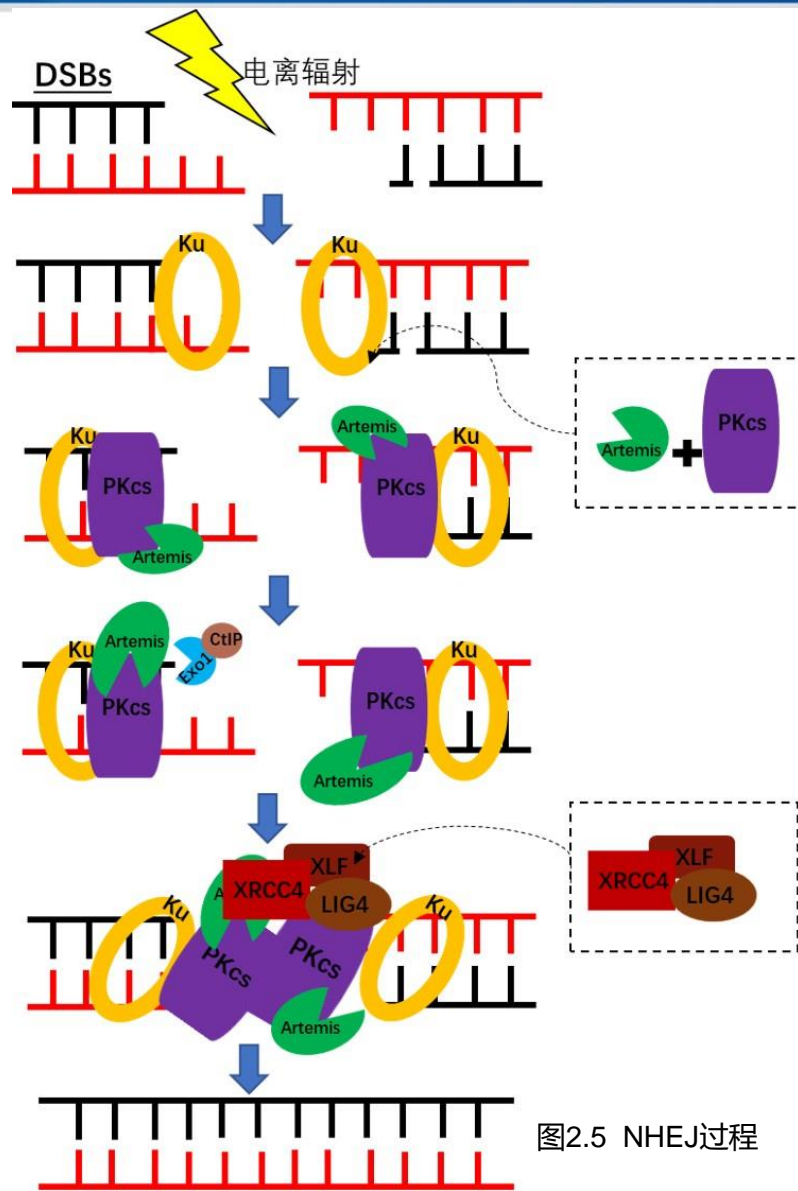


图2.5 NHEJ过程

3. 设计NHEJ慢+快潜在修复路径

两个模型设计区别

● 模型A:

DSB_快 + DSB_快 → 连接

DSB_慢 + DSB_慢 → 连接

● 模型B

DSB_快 + DSB_快 → 连接

DSB_慢 + DSB_慢 → 连接

DSB_快 + DSB_慢 → 连接

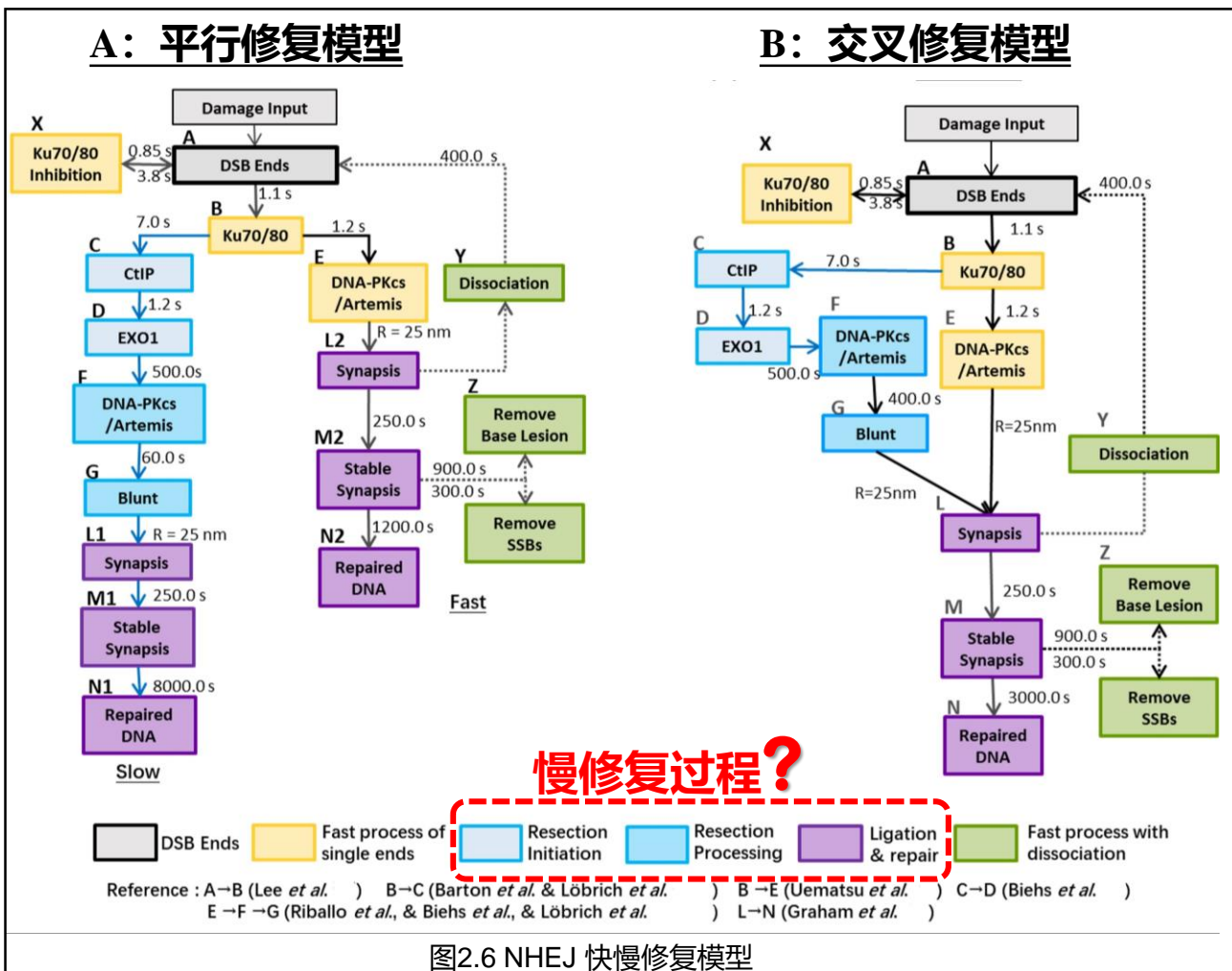


图2.6 NHEJ 快慢修复模型

➤ 首次用逐步建模法研究辐射诱导DNA损伤的慢修复机制模型

4. 验证模型 - (1) 修复蛋白招募动力学

➤ 对比激光&电离辐射对主要蛋白的招募行为

- 根据Uematsu实验, 设置DaMaRiS模拟参数

激光	365 nm, $1.7 \mu\text{m}^2$, 2500-3700个DSB, 模拟1周
质子	7.5 MeV, 4 Gy, 3000个DSB, 模拟1天

➤ 模拟质子辐射条件, 对比文献中10组激光辐射细胞实验结果

➤ 单线程模拟70次, 逐步对比, 归一化数据

修复蛋白	组数	实验细节(激光波长/细胞系)
Ku70/80	2	[405nm / U2OS], [365nm / Xrs6]
DNA-PKcs	4	[365nm / V3] *4
CtIP	1	[405nm / U2OS]
EXO1	2	[405nm / U2OS], [365nm / U2OS]
Artemis	1	[750nm / HEK]

4. 验证模型 - (2)整体修复动力学

➤ 对比DNA修复实验四种标记技术(统计未修复DSB产额)

- 绝对产额： γ -H2AX、53BP1焦点数
- 相对产额：彗星试验、PFGE

➤ 模拟70次, 8种辐射条件, 模拟修复周期24小时, CSF高性能计算集群(UoM)

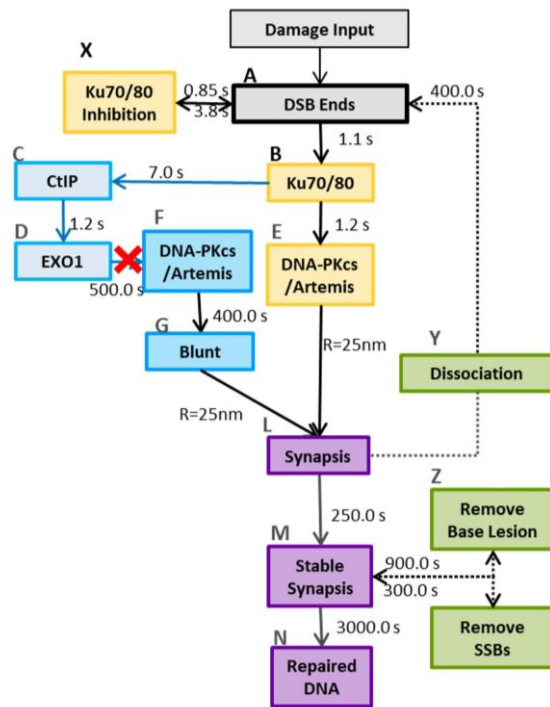
表2.5 验证整体修复行为实验细节(数据均源自文献)

	辐射	细胞系	辐射	细胞系
γ-H2AX 或 53BP1	0.5 Gy/7.5 MeV,p	NHLF	0.5 Gy, γ	NHLF, MEF, Sertoli
	2 Gy/7.5 MeV,p	NHLF	1.3 Gy, γ	1BR3
	3 Gy/187,32 MeV,p	MEF	2 Gy, γ	NHLF, MCR-5, HSF2,C2906, MEF
	4 Gy/7.5 MeV,p	NHLF	4 Gy, γ	NHLF
彗星试验 或 PFGE	50 Gy, γ	CHO	80 Gy, γ	GM38A
	10 Gy, γ	Lymph	50 Gy, γ	CHO
	4 Gy, γ	Hela(T)	20 Gy, γ	CHO, V3, AA8, 1rs1SF, GM5758, M059(T)
			5 Gy, γ	Lymph

4. 验证模型鲁棒性 – (3)整体修复动力学(蛋白缺陷细胞)

• Artemis缺陷细胞模型

➤ 删除模型B中控制Artemis时间常数(D→E)



• XLF缺陷细胞模型

➤ 降低解离时间常数(Y→A)

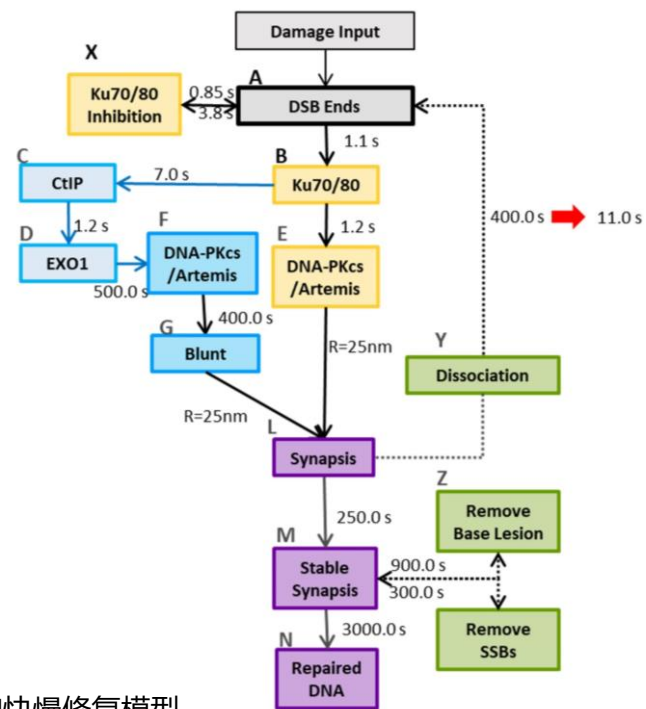


图2.7 蛋白缺陷的NHEJ快慢修复模型

➤ 对比野生型和蛋白缺陷细胞数据, 辐射条件: 光子2 Gy、1.3 Gy

➤ 模拟70次, 模拟修复周期24小时, CSF高性能计算集群(UoM)



5. 统计方法

- 卡方检验法：比较模型结果与文献实验数据误差

$$\chi^2 = \frac{(\text{实验值} - \text{模拟值})^2}{SD_{\text{模拟}}}$$

- 数据自由度： $DoF = N_{\text{数据量}} - N_{\text{拟合参数量}}$
- 用每自由度卡方表示数据间相对误差： χ^2/DoF
- 用 WebPlotDigitizer 软件提取文献数据



1. 多种生物学终点的RBE机制模型

- RBE计算强调不同辐射品质对DNA分子水平的生物效应差异

$$RBE_i = \frac{Yield_p(i)}{Yield_\gamma(i)}$$

➤ 四种生物学终点

- **初始DSB产额**：辐射后最早产生且未进行任何修复过程的DSB
- **未修复DSB产额**：修复24小时后仍未被修复的DSB
- **错修复DSB产额**：修复24小时后已修复但发生错误的DSB
- **未修复+错修复DSB组合**

➤ 拟合不同生物学终点的 DSB产额 vs. LET值

- Python工具的Scipy包
- 假设初始DSB产额 \propto 剂量

2. 蒙卡计算剂量和LET



- 水箱：40×40×40 cm³, 材料G4_WATER
- 源：临床RTPlan文件, 射野10×10 cm², SOBP射程19.4 cm, 展宽10.4 cm
- 物理：默认物理模型
- 计数：40 cm×40 cm×1 mm网格
- 射程阈值：次级质子~0.01 mm, 其他次级粒子~1 mm
- 计算物理量：
 - 剂量：考虑所有类型粒子贡献
 - LET_d & LET_t：仅考虑初级和次级质子贡献
- 服务器：核医学物理中心高性能计算集群(USTC), 32线程, 模拟时间2周

$LET_d = \frac{\sum_i^N \left(\frac{dE_i}{dx_i} \right) \cdot dE_i}{\sum dE_i}$
$LET_t = \frac{\sum_i^N \left(\frac{dE_i}{dx_i} \right) \cdot dx_i}{\sum dx_i}$

1. 质子放疗病例

- 鼻咽癌病例
- 处方剂量: 7500 cGy/30次
- 四个照射野: 30°、60°、120°、270°
- OAR: 左右颞叶、左右视神经、脑干

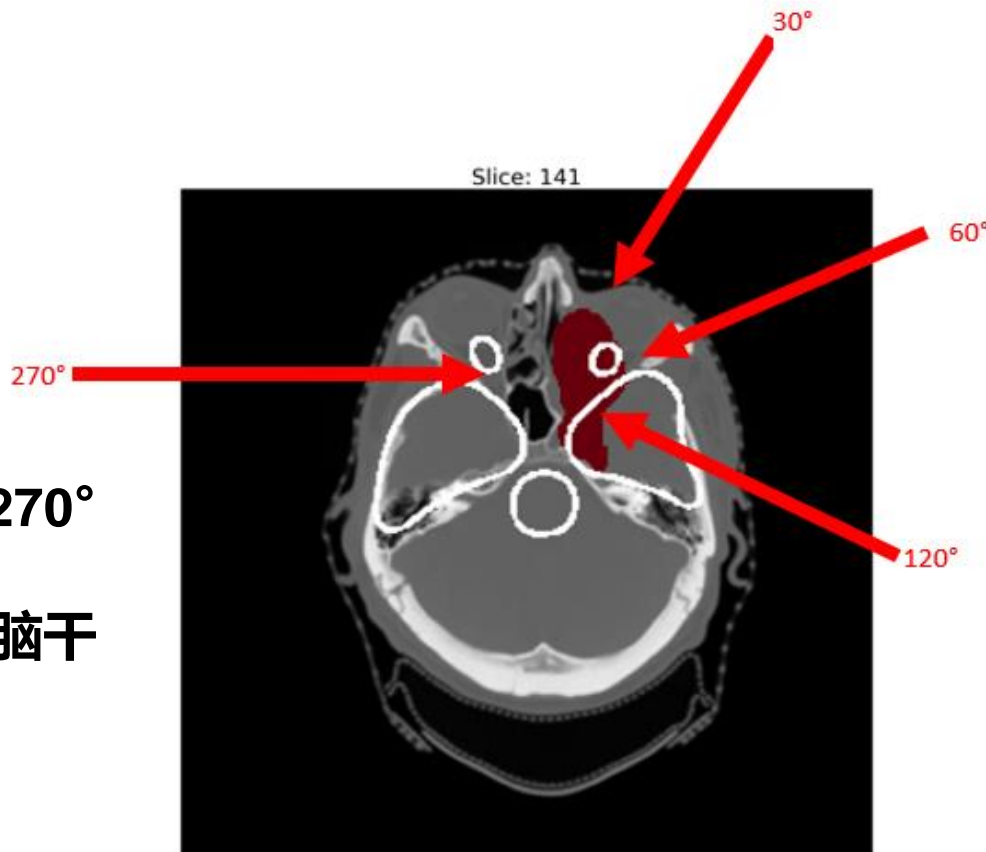


图2.8 应用RBE模型的鼻咽癌病例

2. 流程

- 读取病例RT Plan / CT文件信息
- 生成蒙卡输入文件
- 蒙卡计算CT上剂量和LET分布
- 射程阈值：次级质子1 mm, 次级电子/光子在CT及水箱内0.1mm, 在world内5mm
- 模拟粒子数满足高剂量区域近似不确定度达1.2%
- 蒙卡剂量和TPS剂量进行伽马分析
- 用Python将剂量和LET代入RBE模型
- 不同生物学终点RBE分布可视化

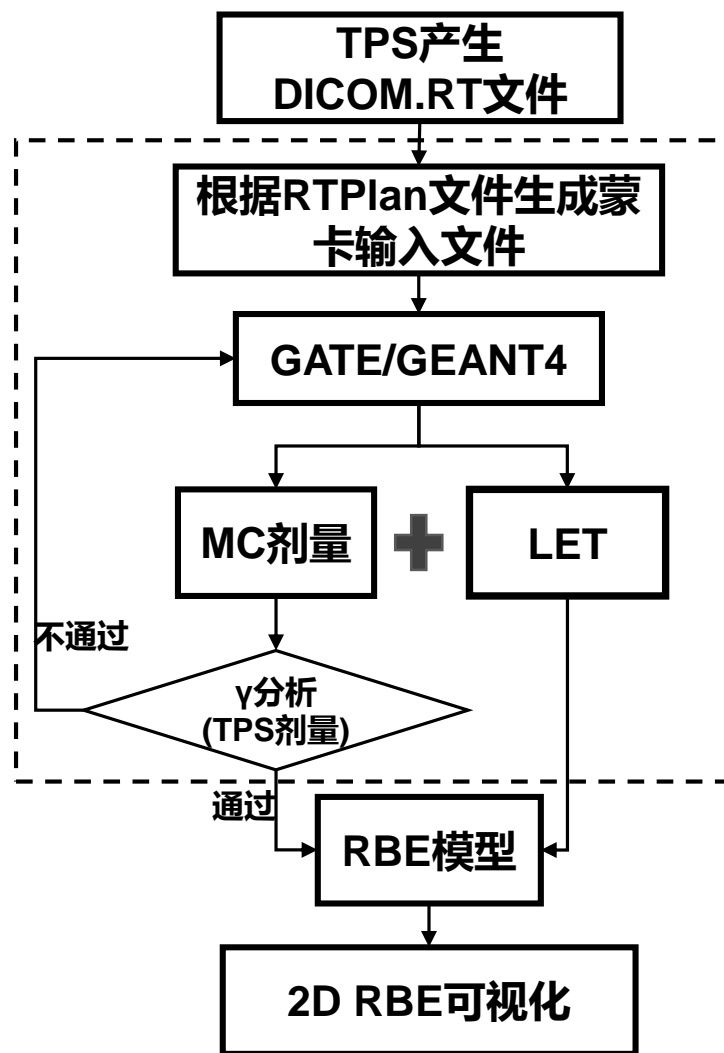


图2.9 质子TPS应用RBE模型流程

1. 质子LET与能量关系验证

- 60 组质子, HiC细胞核沉积1 Gy, 模拟 100 次
- LET与能量成反比, 基本与文献中实验/模拟结果吻合
- LET<2.5 keV/ μm 时, 剂量略低; >25 keV/ μm 时剂量略高; 标准差<2.4%,

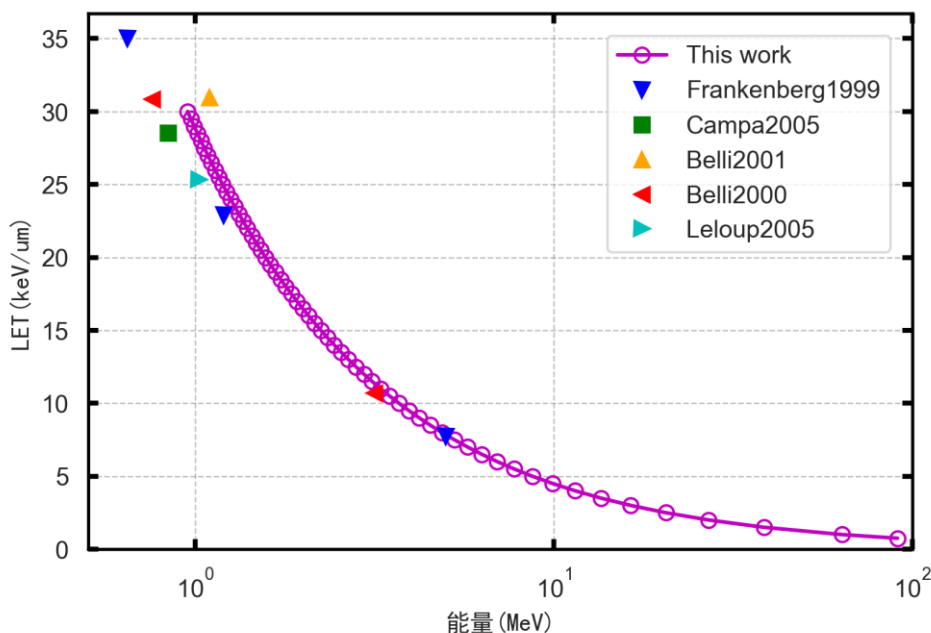


图3.1 60组不同能量质子束在 HiC 细胞核内的LET值分布

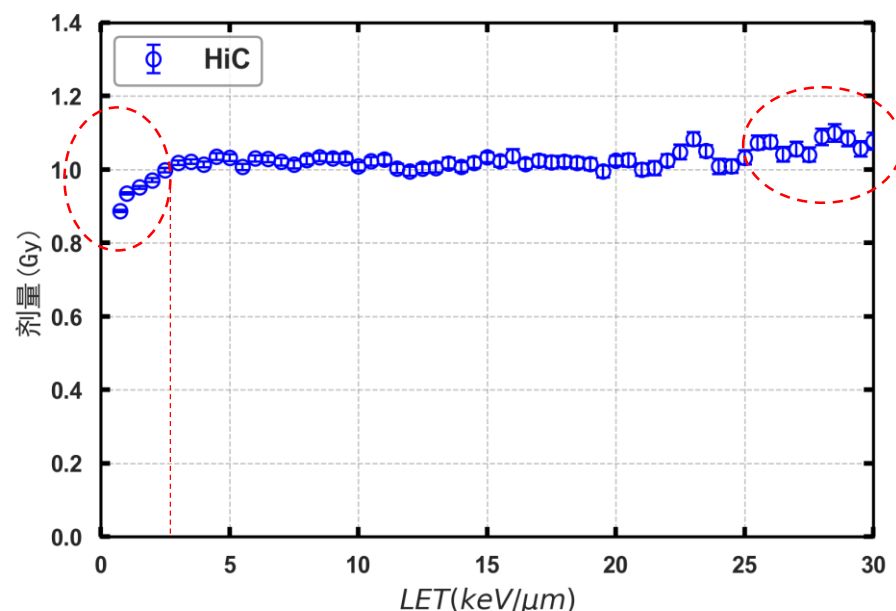


图3.2 60 组不同能量质子束在细胞核内沉积剂量分布

结果与讨论

任务一：辐射诱导DNA损伤结果



中国科学技术大学
University of Science and Technology of China

2. DSB产额 & SSB/DSB验证

● DSB产额

- 明显高于C和B(2000),与其他人实验值趋势基本吻合
- 模拟值在所有文献模型值范围,基本趋势一致,且同Meylan模型值符合最好

● SSB/DSB比值

- 与LET成反比,与能量成正比
- 本文结果高于大部分文献中结果,只低于Leloup的部分实验值

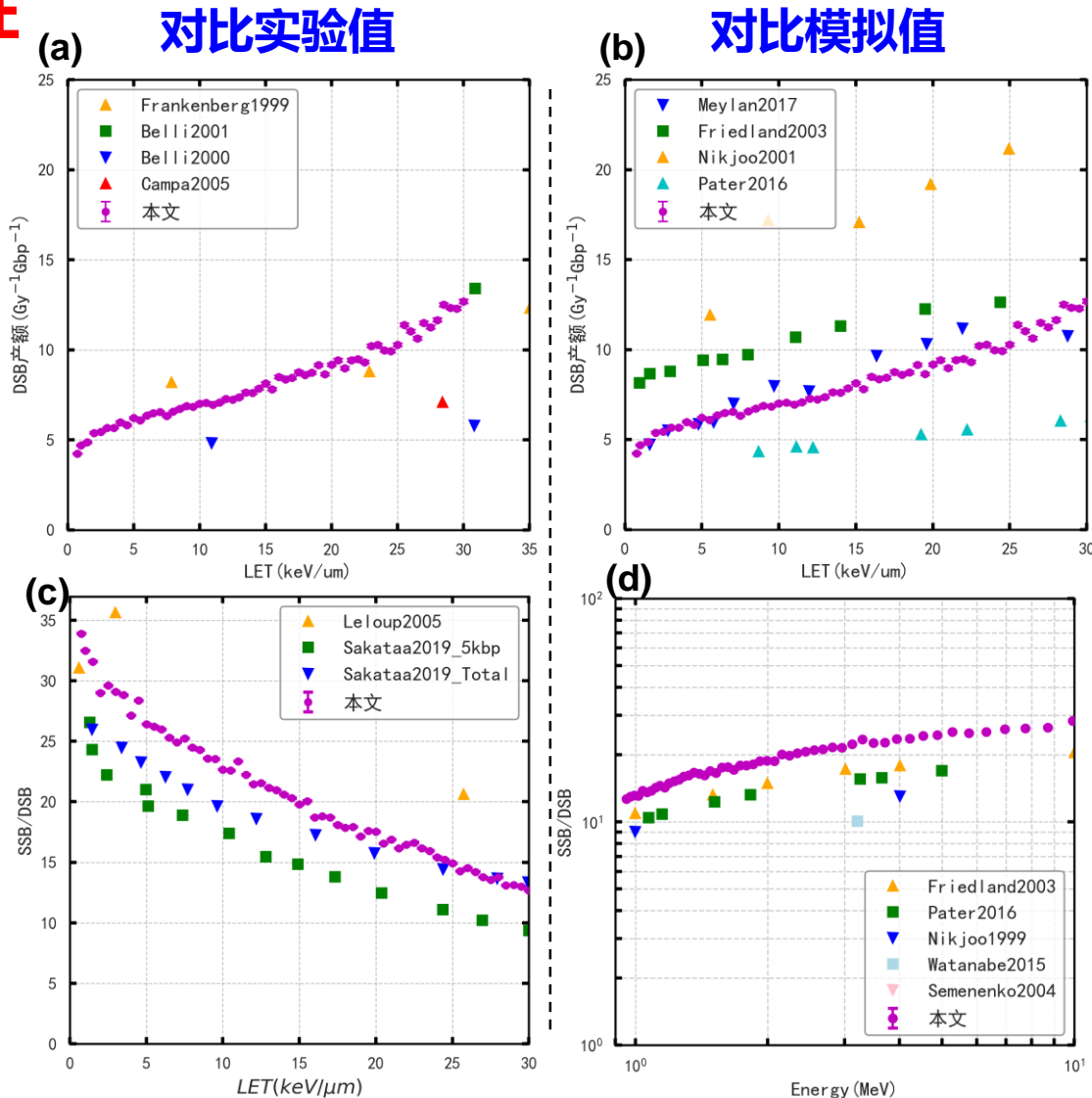


图3.5-3.6 本文以及文献中产生的DSB产额以及SSB与DSB 比值分布

1. 蛋白招募动力学结果

➤ 两个修复路径模型结果差异较小，能复现大部分实验结果

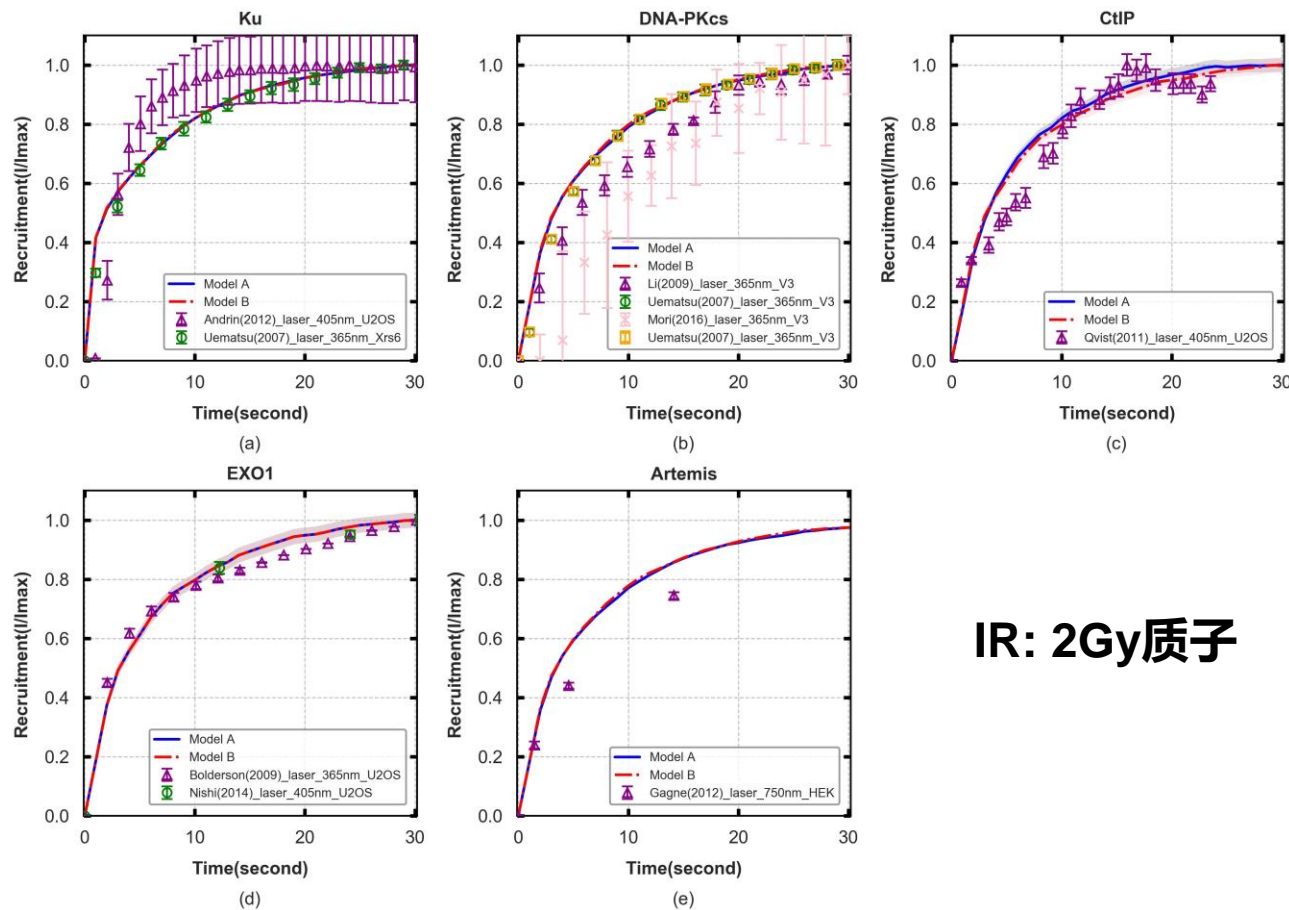


图3.8 2 Gy 质子束照射下的不同修复蛋白的招募动力学结果



cancers

Article

Mechanistic M Pathways Follo

Yaping Qi ^{1,2,†}, John William
Xie George Xu ^{1,*}, Karen Jo

IR: 2Gy质子

2. 正常细胞修复动力学 – γ -H2AX、53BP1

- 模型A的修复效率较低，不能复现大部分实验结果
- 模型B与大部分实验结果符合较好，但3-6小时内的修复效率略高

0.5-4 Gy 光子

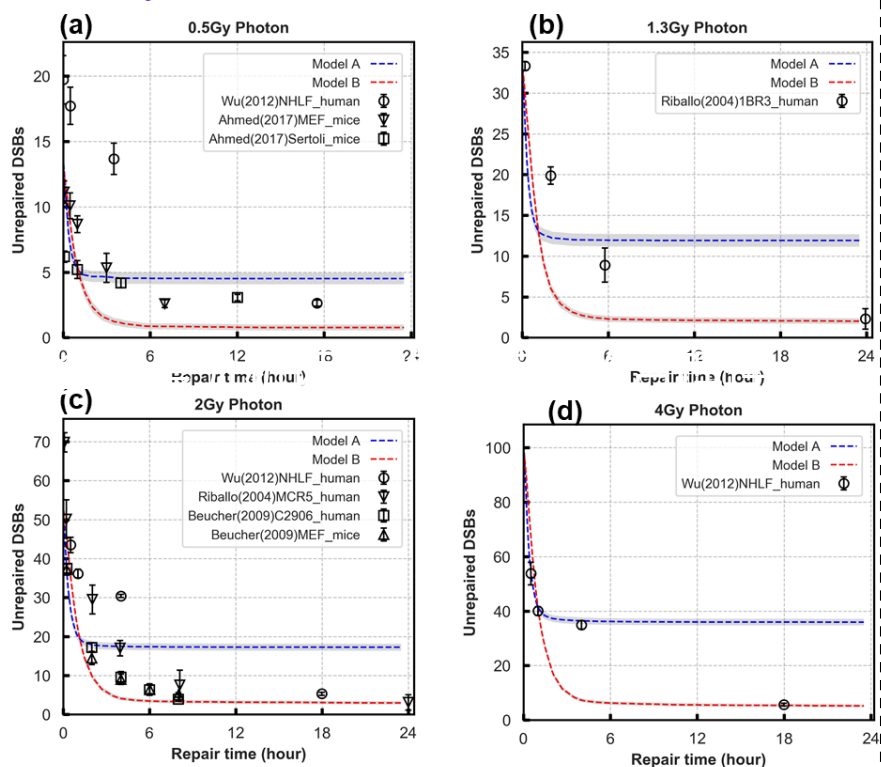


图3.12 修复24小时后两个模型在光子照射时的修复动力学对比

0.5-4 Gy 质子

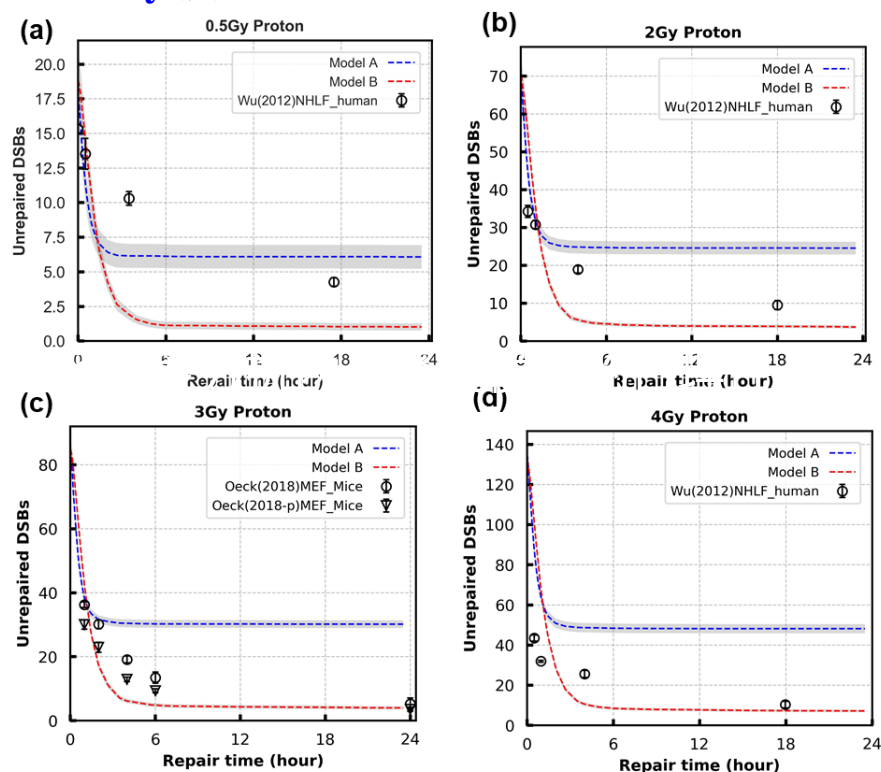


图3.11 修复24小时后两个模型在质子照射时的修复动力学对比

2. 正常细胞修复动力学 – PFGE、彗星试验、其他模型

- 归一化到DSB最大产额
- 模型B能够更好地复现大部分实验结果
- 初步认为其能更代表NHEJ修复机制

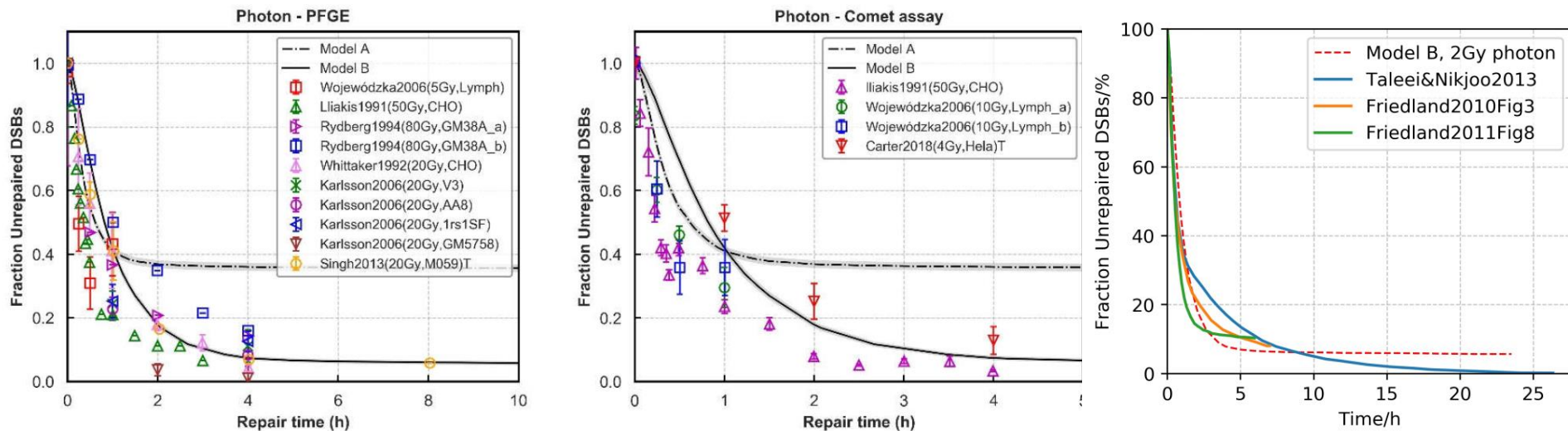


图3.12, 3.15 对比两个模型与文献中PFGE和彗星试验的相对DSB产额以及其他模型结果对比

3. 缺陷细胞修复动力学结果

- 模型B的鲁棒性较好
- 在特定生物实验进行前提供快速且免费的结果预测参考

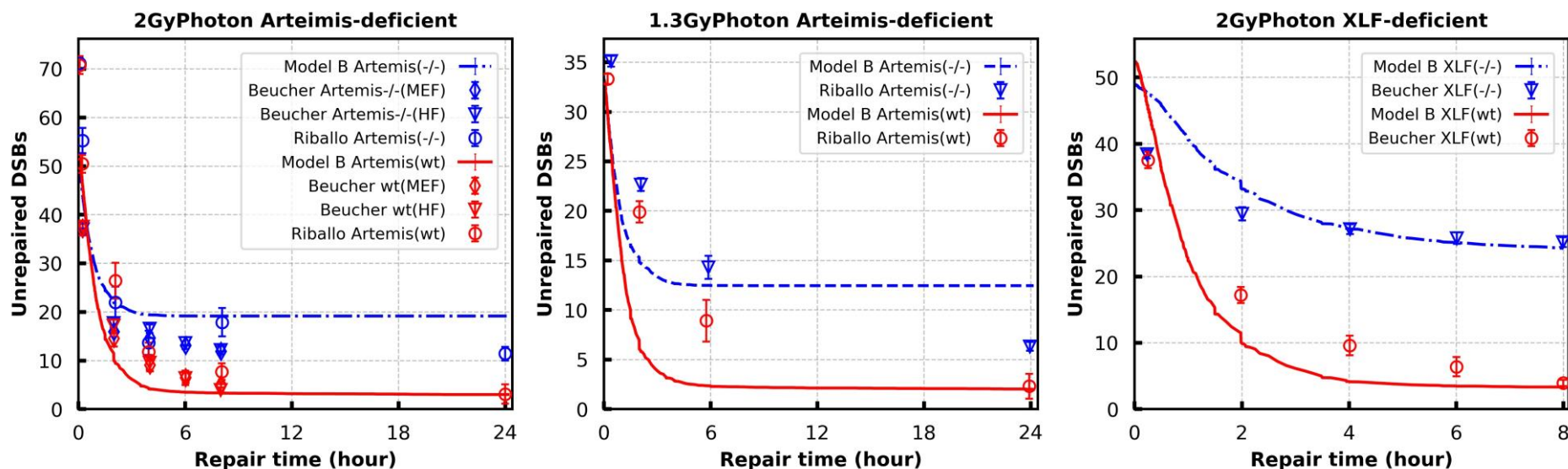
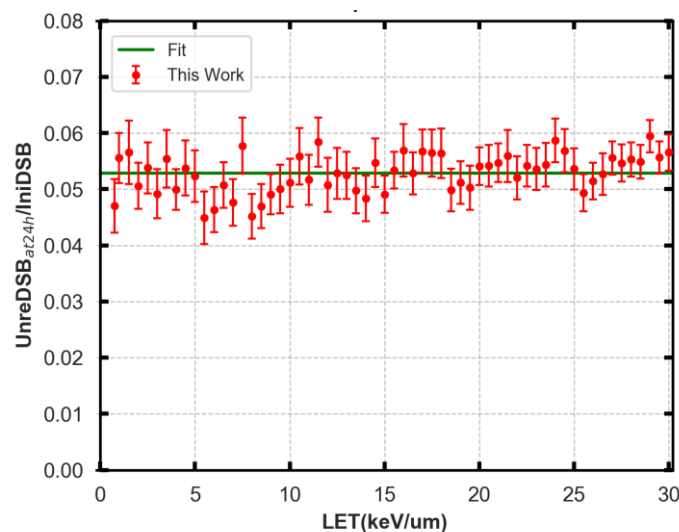
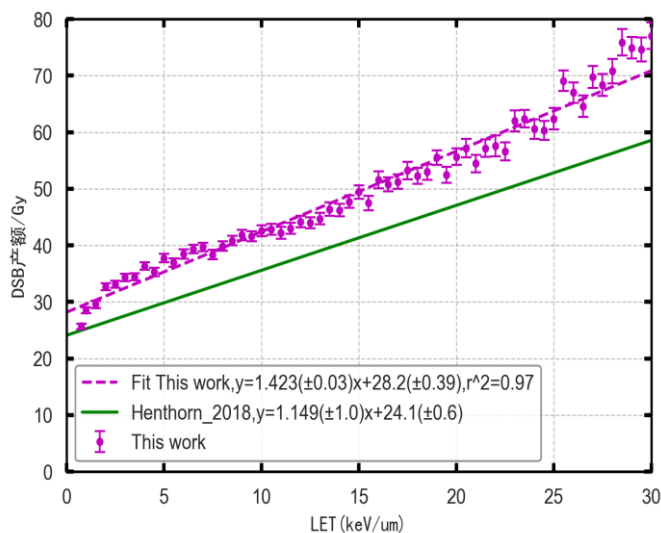


图3.14 光子照射下Artemis或XLF缺陷以及野生型细胞系的整体修复动力学结果对比

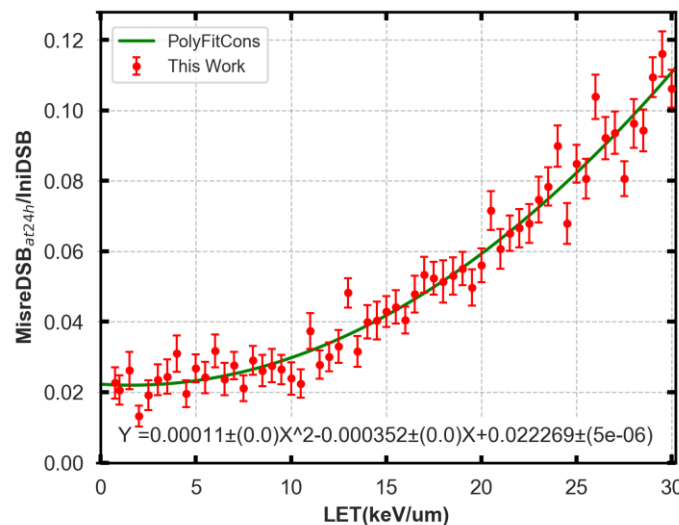
1. DSB产额拟合结果

初始
DSB
产额



未修复
DSB产额

- 初级DSB产额与LET呈线性关系
- 未修复DSB产额与LET大小无关，保持常量
- 错修复DSB产额与LET是二次方程关系



错修复
DSB产额

1. 四种生物学终点的RBE模型拟合结果

初始DSB产额 →

$$RBE_{InitialDSB} = \frac{N_{DSB}}{Y_{Co60,InitialDSB}} = \frac{(a \cdot L + b)}{g}$$

未修复DSB产额 →

$$RBE_{Unr} = \frac{N_{DSB} \cdot c}{Y_{Co60,UnrepairDSB}} = \frac{(a \cdot L + b) \cdot c}{h}$$

错修复DSB产额 →

$$RBE_{Mis} = \frac{Y_{MisrepairDSB}}{Y_{Co60,MisrepairDSB}} = \frac{(a \cdot L + b) \cdot (1 - c) \cdot (d \cdot L^2 + e \cdot L + f)}{i}$$

未修复+错修复
DSB产额组合 →

$$RBE_{Mis\&Unr} = \frac{Y_{UnrepairDSB} + Y_{MisrepairDSB}}{Y_{Co60,UnrepairDSB} + Y_{Co60,MisrepairDSB}} = \frac{((a \cdot L + b) \cdot c) + ((a \cdot L + b) \cdot (1 - c) \cdot (d \cdot L^2 + e \cdot L + f))}{(h + i)}$$

参数	a	b	c	d	e	f	g	h	i
数值	1.4619	27.595	0.0528	0.00011	-0.000352	0.0223	24.04	1.286	0.0427
误差	0.0372	0.411	0.07	0.0	0.0	5E-6	4.9778	1.209	16.7

2. 水箱中结果 – DSB产额

- LET_d 和 LET_t 均在SOBP末端快速升高
- 在水箱深度方向, LET_d 始终比 LET_t 值高
- 错/未修复DSB绝对产额: LET_d 高于 LET_t 的计算结果
- 比值: 两者在SOBP坪区差距很小, 末端则 LET_d 的结果更低

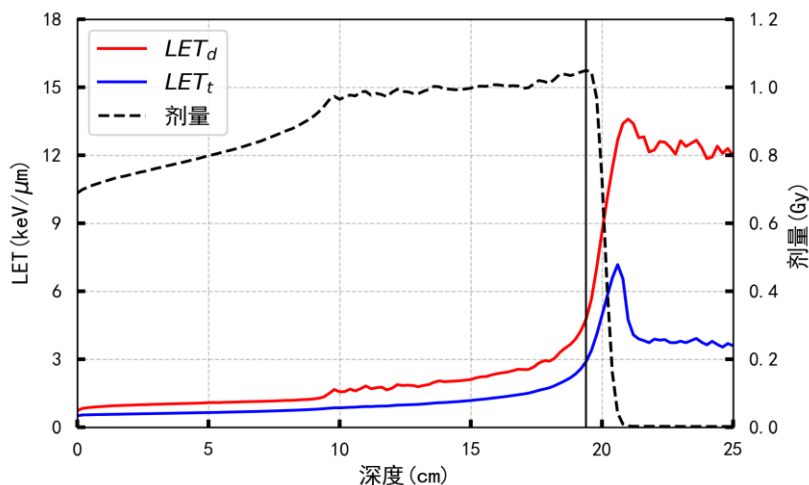


图3.22 平均能量为145MeV临床质子束在水中剂量, LET_d 和 LET_t 分布

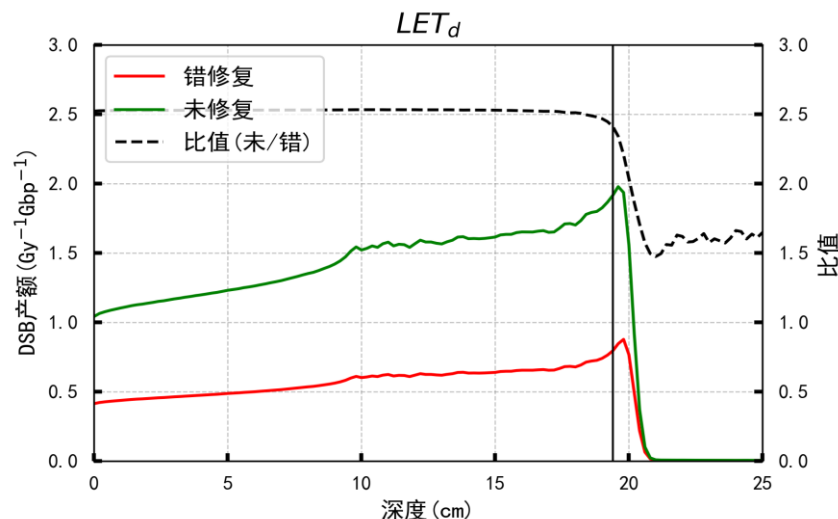


图3.24 基于 LET_d 的DSB损伤产额结果

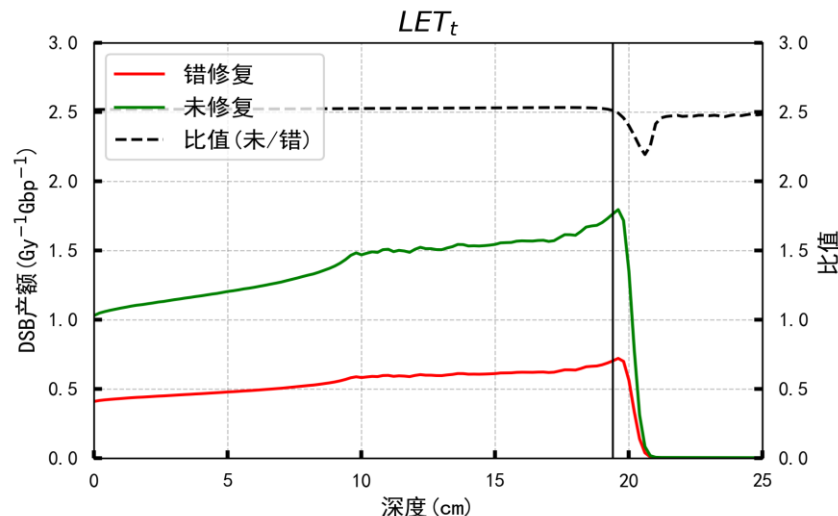
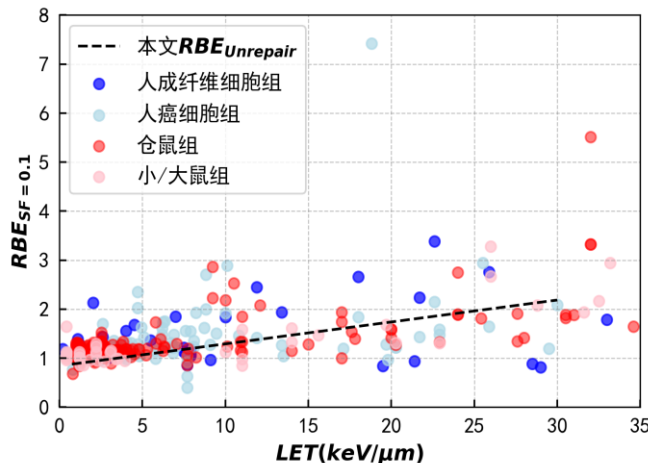
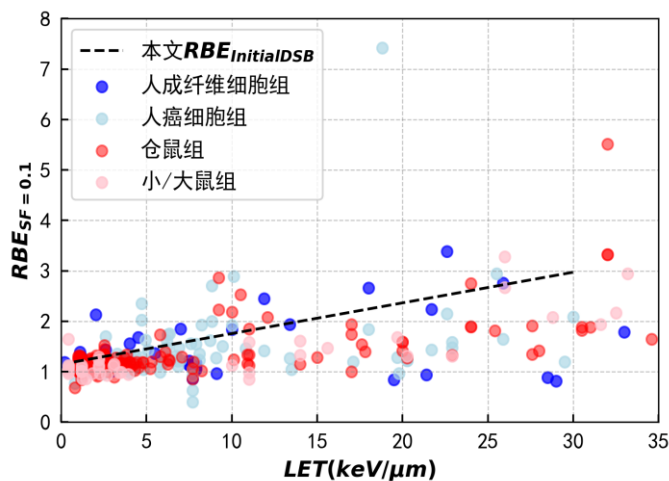


图3.25 基于 LET_t 的DSB损伤产额结果

3. RBE模型对比



➤ 实验结果计算RBE
值时 α/β 值=2 Gy

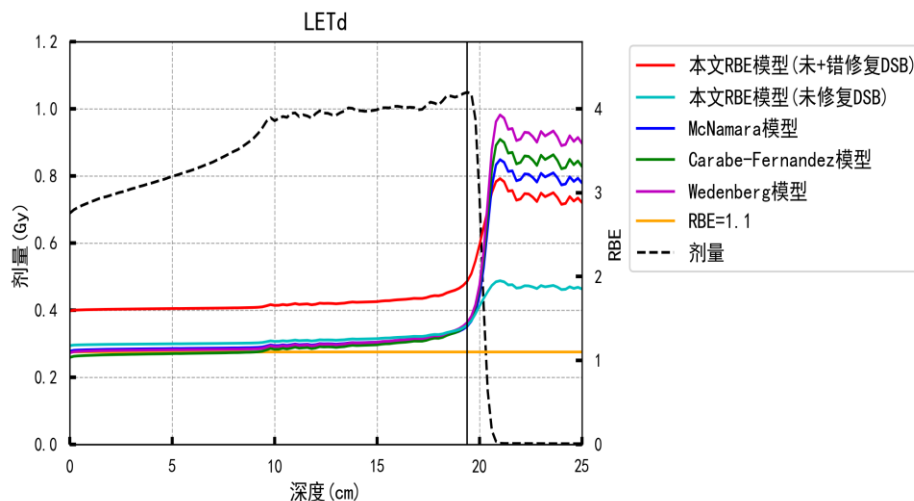
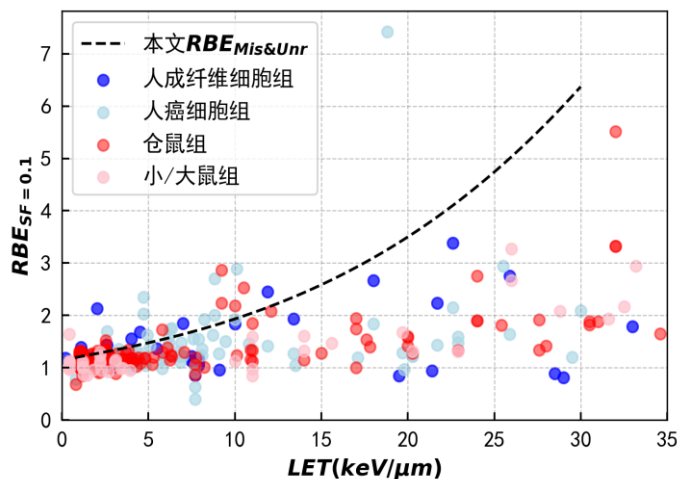
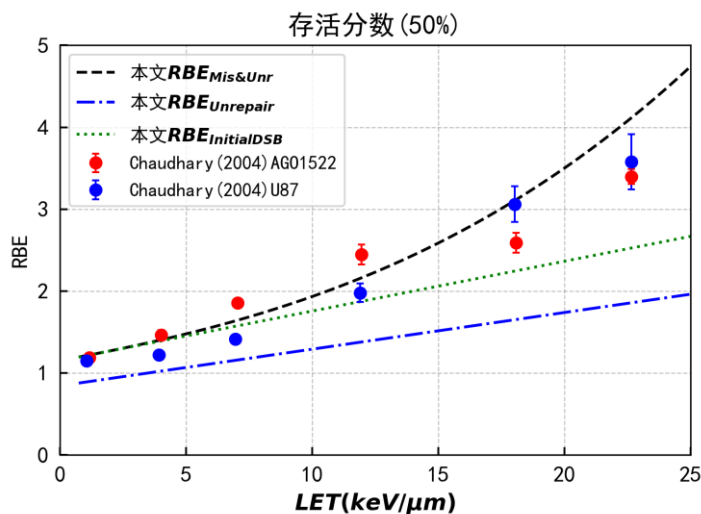
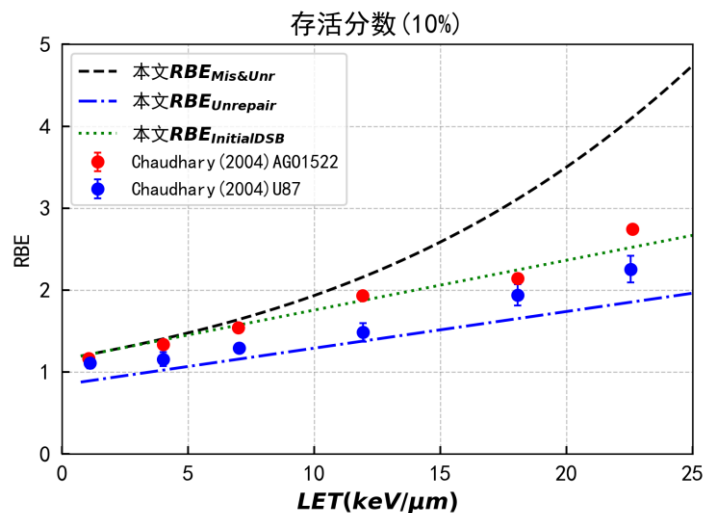
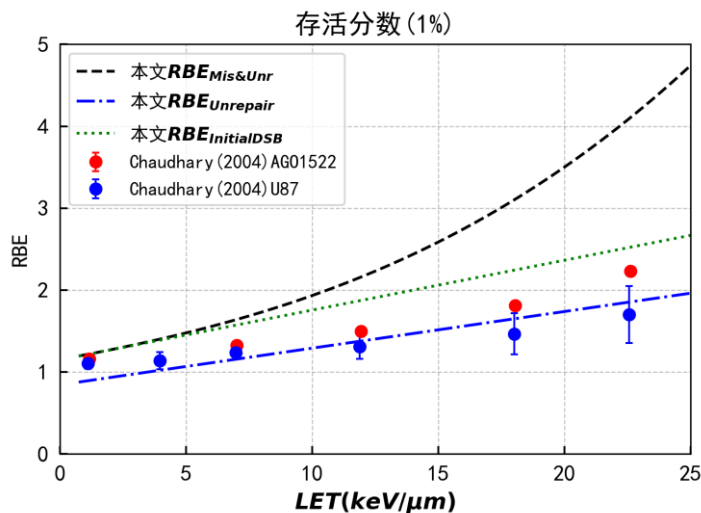


图3.29,3.33 本文RBE 模型与文献RBE结果对比

4. 不同存活分数下RBE模型对比结果



- 不同细胞存活分数的实验产生的RBE值不同
- SF=1%时, $RBE_{未}$ 更符合实验结果
- SF=10%时, $RBE_{初始}$ 更符合实验结果
- SF=50%时, $RBE_{错+未}$ 更符合实验结果
- 含有多个生物终点信息RBE模型更具参考价值

图3.30-32 不同细胞存活分数的实验RBE 值与三种 RBE 模型的对比

1. CT分布图

- 与单一以剂量评估放疗计划相比，融合了多种生物学终点以及可变RBE模型的剂量分布能更好地指导物理师进行生物剂量优化

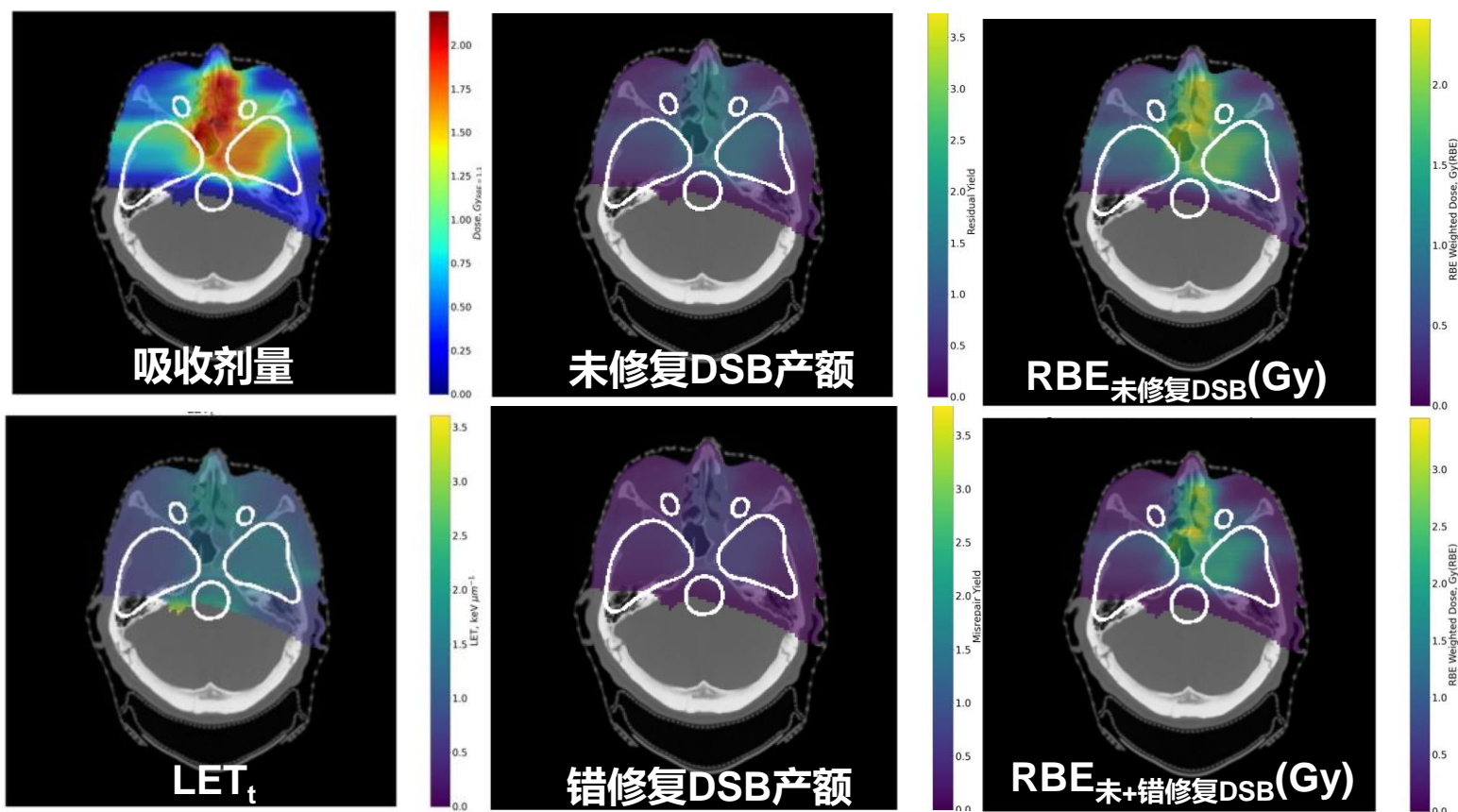
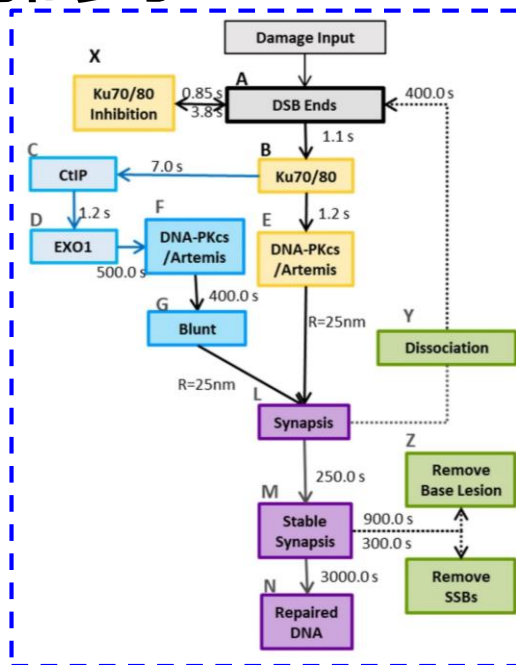
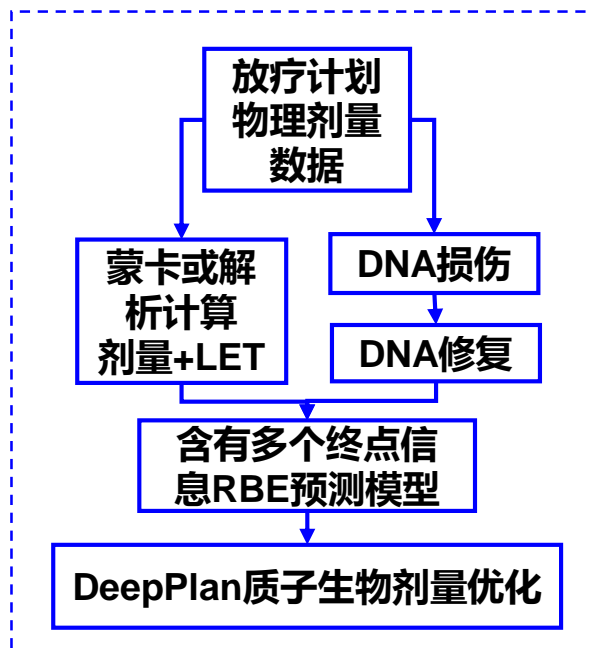


图3.34 进行质子放疗的鼻咽癌病例计算结果

1. 模拟了正常氧气含量下处于 G0/G1 期的正常组织细胞内辐射诱导的DNA 损伤数据
2. 构建并研究了融合切除相关的非同源末端精细修复路径模型
3. 基于构建DNA损伤和修复模型，构建且分析了临床中常用质子 LET(0.75-30 keV/ μm) 中四种不同生物学终点的机制RBE 模型
4. 将RBE模型应用到了临床治疗计划系统

1. 国内首次较完整开发并逐步多角度验证了从 DNA 分子损伤、修复为起点的综合放射生物效应预测机制模型，为集成到自主开发的DeepPlan质子生物剂量模块奠定基础
2. 首次构建G0/G1期正常组织细胞NHEJ修复中存在末端切除相关的慢修复机制模型，为未来开展生物实验提供方向和参考



在未来仍需要完成以下几个任务：

- 1. DNA 损伤模拟要补充氧含量因素, 建立综合了氧效应的DNA 损伤模型**
- 2. 详细评估LET 定义和计算方式将如何影响临床生物剂量结果, 包括次级粒子、输运介质、粒子输运步长等参数**
- 3. 在DNA分子损伤修复基础上, 继续建模染色体畸变和细胞死亡模型, 完善多尺度生物效应预测模型**

期刊论文

1. Yaping Qi, John Warmenhoven, Nicholas Henthorn, Samuel Ingram, Xie Xu, Karen Kirkby, Michael J. Merchant. “Mechanistic modelling of slow & fast NHEJ DNA repair pathways following radiation for G0/G1 normal tissue cells”. *Cancers*, 2021, 13:2202. [SCI, IF=6.126, 一作]
2. Yaping Qi, Lijuan He, Zhi Wang, Yuanyuan Liu, Hongdong Liu, Wanli Huo, X. George Xu, Zhi Chen. “Evaluation of secondary dose and cancer risk for out-of-field organ in esophageal cancer IMRT in a Chinese hospital using Atom Phantom measurements”. *Radiation Protection Dosimetry*, 2017, 177(4):389-396. [SCI, IF=0.917, 一作]
3. 齐雅平, 高宁, 卢晓明, 钱东, 徐榭. FLASH放疗技术实现及其生物机理研究进展. *中国医学影像技术*, 2020. [中文核心, IF=1.36, 一作, 待发表]
4. A. Suleiman, Yaping Qi, Zhi Chen, X George Xu. “Monte carlo study of organ doses and related risk for cancer in Tanzania from scattered photons in cervical radiation treatment involving Co-60 source”. *Physica Medica-European Journal of Medical Physics*. 2019, 62:13-19. [SCI, IF=2.53, 二作]
5. A. Suleiman, Yaping Qi, Yifei Pi, X. George Xu. “Monte Carlo Simulation of out-of-field organ doses and cancer risk in Tanzania for radiation therapy of unilateral retinoblastoma using a ^{60}Co unit”. *Radiation Protection Dosimetry*, 2017, 197(3):263-270. [SCI, IF=0.831, 二作]
6. Wanli Huo, Yifei Pi, Mang Feng, Yaping Qi, Yiming Gao, P. F. Caracappa, Zhi Chen, X George Xu. “VirtualDose-IR: a cloud-based software for reporting organ doses in interventional radiology”. *Physics in Medicine & Biology*, 2019, 64(9):095012 (22pp). [SCI, IF=3.03, 四作]
7. 刘渊渊, 吴爱冬, 刘红冬, 齐雅平, 陈志, 徐榭. $X(\gamma)$ 射线全身照射过程中患者全身剂量分布的蒙特卡罗模拟. *中华放射肿瘤学杂志*, 2018, 28(1):47-51. [中文核心, IF=1.12, 四作]

致谢



中国科学技术大学
University of Science and Technology of China



核医学物理研究所
Institute of Nuclear Medical Physics



徐榭 教授

陈志 副教授

裴曦 副教授

Karen Kirkby 教授

Michael Merchant 讲师

John Warmenhoven 博士

Nicholas Henthorn 博士

Samuel Ingram 物理师

Edward Smith 物理师

MANCHESTER
1824

The University of Manchester

The
Precise
Group

NHS
The Christie
NHS Foundation Trust

- 感谢国家自然科学基金面上项目(No.11575180), 安徽省自然科学基金(1908085MA27), 国家重点研发计划(No.2017YFC0107504), 安徽省重点研发计划(No.1804a09020039), 安徽省高校自然科学研究项目(No.KJ2019A0240)和国家留学基金委资助(No.201806340232)