

## Comparison of Linear-Quadratic Model, Incomplete-Repair Model and Marchese Model in Fractionated Carbon Beam Irradiation

Eunae Choi

Department of Bio-convergence Engineering, Korea university

### 탄소 빔 분할조사 시 Linear-Quadratic모델, Incomplete-Repair모델, Marchese 모델 결과 비교

최은애

고려대학교 바이오융합공학과

#### Abstract

We obtained Surviving Fraction (SF) after irradiation carbon beam to compare the applicability of the Linear-Quadratic model, Incomplete Repair model, Marchese model. Mathematica software(ver 9.0) used to calculate parameters and compared result. LQ model could not explain the entire response of fractionated carbon beam irradiation. It becomes necessary to construct models that extend the LQ model of conventional radiotherapy for the carbon beam therapy. By combining both Potentially Lethal Damage Repair (PLDR) and Sublethal Damage Repair (SLDR) a new LQ model can develop that aptly modeled the cellular response to fractionated irradiation.

Keyword : RBE, Biophysical model, Carbon beam, Clonogenic assay, NB1RGB

#### 요약

본 연구는 탄소 빔의 분할조사 후 세포생존율 (Surviving Fraction, SF) 값에 따른 Linear-Quadratic model, Incomplete Repair model, Marchese model의 결과값을 비교하기 위해 진행하였다. 탄소 빔을 4fraction까지 조사한 후 얻은 세포생존율 값을 바탕으로 mathematica 프로그램 (ver 9.0)을 이용하여 각각의 모델로 결과값을 얻어 비교해 보았다. 그 결과 즉시 NB1RGB를 시딩한 값은 repair가 감안되지 않은 LQ 모델이 적합하였지만 fraction 시행한 후의 결과값은 오차를 보였다. 따라서 Potentially Lethal Damage Repair (PLDR)과 Sublethal Damage Repair (SLDR)의 발생을 각각 감안한 repair 모델을 이용하여 적합한지 판단하였다. 이를 바탕으로 탄소 빔의 분할 조사 시 LQ 모델에 각각의 repair의 양을 감안한 새로운 회복 관련 모델의 적용 가능성을 보고자 하였다.

중심단어: 생물학적효과비, 생물리학적모델, 탄소빔, 콜로니어세이, NB1RGB

## I. INTRODUCTION

고LET 방사선은 브래그피크라는 물리적 특이성을 가지고 있어 방사선치료 시 큰 장점을 지닌다. 대부분의 방사선 치료 시 고식적인 X선을 기반으로 한 LQ모형을 이용하여  $(\alpha/\beta)$  값을 구한 후 RBE값을 계산하고 있다<sup>[1],[2]</sup>. 그러나 이 LQ 모델은 오직 두 가지 파라미터에 의존한 것으로 분할 빔 조사를 시행했을 시 이에 따른 변수가 감안되지 않아 RBE 결과 값에서 적지 않은 오차를 보이고 있다<sup>[3]</sup>. 탄소 빔 치료 성적의 향상을 위하여 분할조사는 불가피한 상황이며 이는 LQ 모델이 분할 조사에 적용 가능 하도록 하기 위하여 다양한 파라미터 값을 감안하여 모델을 확장할 필요가 있음을 말한다<sup>[4],[5]</sup>.

분할 조사 시 인터벌 시간에 일어나는 Potentially Lethal Damage Repair (PLDR) 은 방사선 조사 후 cell cycle이 6시간 이상 되면 고려되며 분할 횟수에 따라 회복 양을 합한 값으로 나타낼 수 있다<sup>[6],[7]</sup>. 즉, PLDR을 고려한 파라미터를  $\gamma$  라 두었을 때 n번 분할조사 시 PLDR은 n번 반복되어 식(1) 로 계산할 수 있다. PLDR은 cell이 confluent 한 상태이거나 세포 분할이 연기될 때 나타난다고 예상된다. 따라서 PLDR은 방사선 조사 후 24시간 동안 cell을 confluent하게 두고 delayed assay으로 측정할 수 있다<sup>[8]</sup>.

$$\text{LogSn} = -n\gamma(ad + \beta d^2) \dots \dots \dots \text{식 (1)}$$

또한 세포의 적절한 환경에 따라 Sublethal Damage Repair (SLDR) 양을 나타내는 파라미터 값을  $\Theta$ 로 두고 이를 감안하여 제안된 IR모델은 LQ모델에서 오직 SLDR의 확대로 제안되었다. cell survival을 나타내는 Sn은 아래 식으로 계산할 수 있다.

$$\text{logSn}(d, \Theta) = -n[(ad + \beta d^2) + \beta d^2 \text{hn}(\Theta)],$$

$$\text{hn}(\Theta) = (2/n)[\Theta/(1-\Theta)][n - (1-\Theta)n]/(1-\Theta)^{[9]} \dots \dots \dots \text{식 (2)}$$

이러한 세 가지 Linear-Quadratic model, Incomplete Repair model, Marchese model을 세포생존율 (surviving fraction, SF) 값에 따른 결과 값을 비교해 보았다. 따라서 이번 연구 결과를 활용하여 탄소 빔 분할 조사 시 더 정확한 값을 도출할 수 있는 회복된 값을 감안한 새로운 생물학적 모델을 만들고자 하였다.

## II. MATERIAL AND METHOD

### 1. 방사선조사

본 실험은 2014년 1월 27일~2014년 1월 30일, 탄소 빔을 이용하여 많은 임상적 시도를 해오고 있는 일본의 NIRS 내 HIMAC을 이용하여 진행하였다. 카본 이온 빔의 initial 에너지는 290MeV/u 이었으며 조사 선량은 0.1~7.0Gy/min 범위에서 컨트롤 되었으며 Isocenter로부터 10cm까지 균일한 빔임을 확인하였다. 세포 사이에 에너지 흡수체인 PMMA를 삽입함으로써 조절하였으며 본 실험에 사용된 LET는 평균 약 13keV/μm 이었으며 빔의 도입부였다. [Table 1] 분할조사를 위해 24시간 간격으로 1,2,3,4 fraction으로 각각의 세포 플라스크에 통과 후 빔 감 1% 이하로 isocenter에 0.15~5.5Gy의 선량을 주었다. [Fig. 1] 그리고 mathematica software (ver.9.0) 를 이용하여 파라미터 값을 계산하였다.



Fig. 1. Cell irradiation in HIMAC (Heavy Ion Medical Accelerator in Chiba).

Table 1. Beam Irradiation condition

absorbed dose	dose rate	LET	beam energy
0.15-5.5Gy	0.1-7.0Gy/min	13keV/u	290MeV/u
dose uniformity			
10x10 > 90%			

## 2. 셀라인

이 연구에서는 탄소 빔의 마우스 피부에 미치는 영향에 대한 선행 연구를 위해 normal human skin fibroblast cell line인 NB1RGB를 사용하였다. (Cell No. RCB0222) 세포는 일본의 RIKEN BRC cell bank에서 분양 받았다. 처음에 NB1RGB는 75cm<sup>2</sup> 플라스틱 플라스크 (BD FalconTM353084)에서 배양하였다. 미디어는 Eagle's minimum essential medium (MEM:Nissui Pharmaceutical)에 10% fetal bovine serum을 섞었다. 세포의 plating efficiency는 10cm diameter 플라스틱 dish의 (BD FalconTM,353003) 20~30%이었다. 셀은 37° 의 5% CO<sub>2</sub> 의 적절한 환경에 배양시켰다. Normal cell cycle의 phase는 synchronize하였다. 그리고 세포 사이클에 따른 방사선 감수성의 차이에 따른 부수적인 반응 차이를 배제시켜주기 위해 100% confluent한 상태를 유지함으로써 G1/G0기에 stop시켰다.

## 3. 콜로니 어세이

마지막 조사 후 한 시간 안에 세포는 다시 dish에 plate하였다. 그리고 콜로니 형성을 위해 2주 동안 5% CO<sub>2</sub>와 37° 로 배양시켰다. 탄소 빔 조사 후 dish 마다 60-70개의 콜로니를 만들기 위해 NB1RGB cell 의 각각 다른 수를 100mm dish에 즉시 재배양하였다. 콜로니 어세이를 위해 콜로니들은 14-21일 배양 시킨 후에 20% 메탄올로 고정시키고 0.2% 크리스탈 바이올렛으로 염색하였다. 생존한 콜로니는 50개 이상의 세포로 구성되어 있다.

## III. RESULT

카본 빔을 조사한 후 NB1RGB 세포의 immediata assay로 얻은 세포생존율 값을 얻었다. LQ모델의 각각 파라미터인  $\alpha$ ,  $\beta$ 는 값을 구하였다. n은 fraction 수에 따라 세포생존율이 반복될 수 있어 각각의 식으로 결과를 확인하였다. 그 결과 immediata assay로 얻은 값은 repair가 감안되지 않은 LQ모델의 결과와 큰 오차를 보이지 않았지만 fraction 조사한 값을 단순히 세포생존율이 합해진 값과는 큰 오차를 보였다. [Fig. 2]

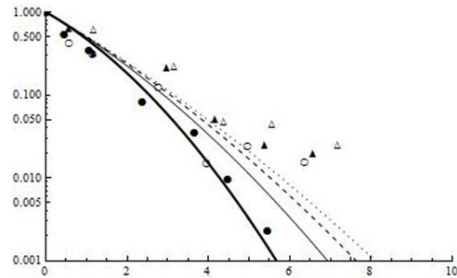


Fig. 2. Fit to the surviving fraction (SF) data by LQ model. (horizontal axis: absorbed dose, vertical axis: surviving fraction) filled circle: immediate assay, open circle: 2fraction, filled triangle: 3fraction, open triangle: 4fraction.

PLDR을 고려한 파라미터를  $\gamma$ 라 두었을때 n번 분할 조사 시 PLDR은 n번 반복되므로 식 (1) 을 이용하여 fraction에 따른 각각의  $\gamma$ 값을 얻은 후  $\alpha, \beta, \gamma$  값을 이용하여 결과 값을 확인하였다. (Table 2) 4fraction 결과값 비교에서 실제 세포생존율보다 더 큰 세포생존율값을 보였다. Sublethal Damage Repair (SLDR) 양을 나타내는 파라미터 값을  $\Theta$ 로 두고 이를 감안하여 제안된 IR모델은 식 (2)의 ( $\alpha, \beta, \Theta$ ) 파라미터 값을 구하였다. 이는 실제 세포생존율보다 결과값이 낮았다. [Fig. 3]

Table 2. Parameter in mathematica software (ver 9.0)

$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\Theta$
0.65	0.10	2fraction	1.67
		3fraction	1.11
		4fraction	0.49

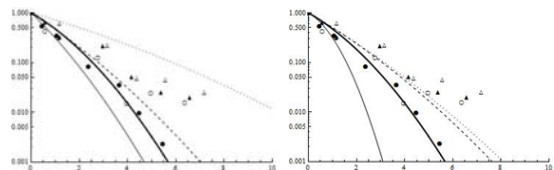


Fig. 3. Fit to the surviving fraction (SF) data by IR model (left) and Marchese model (right) (horizontal axis: absorbed dose, vertical axis: surviving fraction) filled circle: immediate assay, open circle: 2fraction, filled triangle: 3fraction, open triangle: 4fraction

PLDR 양과 SLDR 양의 발생을 각각 감안한 repair 모델과 best fitting 결과 값과 비교해 본 결과 PLDR과 SLDR의 Cross term의 파라미터 값이 감안되어야 함을 확인하였다. [Fig. 4]

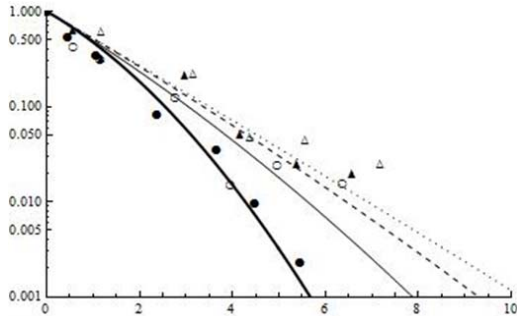


Fig. 4. Fit to the surviving fraction (SF) data by best fitting. (horizontal axis: absorbed dose, vertical axis: surviving fraction) filled circle: immediate assay, open circle: 2fraction, filled triangle: 3fraction, open triangle: 4fraction

#### IV. DISCUSSION

NB1RGB을 콜로니 어세이를 시행한 후 immediate assay로 얻은 결과 값은 repair의 parameter가 감안되지 않은 LQ 모델의 적용이 적합한 결과를 보였지만 탄소 빔을 fraction 조사하여 LQ 모델을 적용했을 시 결과값의 오차를 보였다. 이 결과는 탄소 빔 분할 조사 시 전체적인 반응을 LQ 모델로 설명하기가 어려우며 이러한 분할 조사에 적용가능 하도록 하기 위하여 회복에 관련된 다양한 파라미터 값을 감안하여 LQ 모델을 확장할 필요가 있음을 뜻한다<sup>[10],[11]</sup>. 따라서 PLDR 양과 SLDR 양의 발생을 각각 감안한 repair 모델을 이용하여 결과를 확인한 후 best fitting 결과 값과 비교해 본 결과 PLDR과 SLDR의 각각의 capacity와 두 가지 회복에 대한 cross term의 파라미터 값이 감안되어야 함을 알 수 있었다.

#### V. CONCLUSION

본 연구는 탄소 빔의 분할조사 후 세포생존율 (Surviving Fraction, SF) 값에 따른 Linear-Quadratic model, Incomplete Repair model, Marchese model의 결과값을 비교하기 위해 진행하였다. 연구 결과를 바탕으로 탄소 빔의 분할

조사 시 PLDR과 SLDR의 term과 두 가지 파라미터의 Cross term을 감안하여 LQ모델을 확장하여 생물리학적 모델의 적용 가능성을 확인 하였다.

#### Reference

- [1] Mami wada et al, "Modeling the biological response of normal human cells, including beam irradiation" JRR, pp.1-10, 2013.
- [2] Hiromitsu IWATA et al, "Compatibility of the repairable-conditionally repairable, multi-target and linear-quadratic models in converting hypofractionated radiation doses to single doses" JRR, pp 367-373, 2013.
- [3] B. K. Lind et al, "Repairable-Conditionally Repairable Damage Model Based on dual poisson processed" Radiation research, pp 366-375, 2003.
- [4] Howard D. Thames, "An 'incomplete-repair' model for survival after fractionated and continuous irradiations" INT.j. RADIAT. BIOL, Vol. 47, pp 319-339, 1985.
- [5] Akifumi Miyakawa, "Applicability of the linear-quadratic model to single and fractionated radiotherapy schedules: an experimental study" Journal of Radiation, pp. 1-4, 2013.
- [6] Cornelius A. Tobias, "The Repair-Misrepair model in radiobiology: Comparison to other models" Radiation Research, pp. 77-95, 1985.
- [7] Stanley B. Curtis, "Lethal and potentially lethal lesions induced by radiation - A unified repair model", Radiation research, pp. 252-270, 1986.
- [8] M. Wedenberg, "Analytical Description of the LET dependence of cell survival using the repairable-conditionally repairable damage model", Radiation Research, pp. 517-525, 2010.
- [9] Alejandro carabe-fernandez et al, "The incorporation of the concept of minimum RBE into the linear-quadratic model and potential for improved radiobiological analysis of high-LET treatments" int. j. Radiat. Biol, Vol. 83, No. 1, pp. 27-39, 2006.
- [10] Hiromitsu Iwata et al, "Estimation of errors associated with use of linear-quadratic formalism for evaluation of biologic equivalence between single and hypofractionated radiation doses: an in vitro study" Int J. Radiation Oncology, Vol. 75, No. 2, pp. 482-488, 2009.
- [11] Anatoly dritschilo et al, "Repair of radiation damage in plateau-phase mammalian cells: relationship between sub-lethal and potentially lethal damage states" Int. J. Radiat. Biol, Vol. 30, No. 6, pp. 565-569, 1976.