



超高剂量率放疗(FLASH-RT)生物效应影响因素分析

朱红玉^{1,2}, 胡安康³, 查皓³, 陈若彤^{1,4}, 邓小武^{1,2*}

1. 中山大学肿瘤防治中心放疗科, 广州 510060

2. 中山大学-国科离子放射治疗前沿技术联合实验室, 广州 510060

3. 清华大学工程物理系, 北京 100084

4. 中山大学中法核工程与技术学院, 珠海 519082

* 联系人, E-mail: dengxw@sysucc.org.cn

2024-08-08 收稿, 2025-01-09 修回, 2025-01-13 接受, 2025-01-14 网络版发表

国家重点研发计划(2022YFC2402304)和国家自然科学基金(12305410, 12405359, 82373528)资助

摘要 超高剂量率放疗(FLASH-RT)是近年来肿瘤放射治疗领域内的热点前沿课题。一系列实验数据表明FLASH-RT可以有效杀伤肿瘤, 同时显著减少正常组织的辐射损伤, 这种特殊的生物效应被称为FLASH效应。FLASH效应的产生受到多种因素的影响, 主要分为物理参数和生化参数。其中, 物理参数主要包括剂量率、单次照射剂量或剂量分割策略、束流脉冲结构等; 生化参数则包括受辐照组织的氧合程度、类型、研究终点等。参数的改变会不同程度地影响FLASH-RT的生物效应响应。本文结合已发表的实验数据, 系统分析物理参数及生化参数变化对FLASH效应的影响, 为未来FLASH-RT的研究设计及临床转化提供参考。

关键词 超高剂量率放疗, FLASH-RT, 生物效应, 影响因素

放射治疗(简称放疗, radiotherapy, RT)是最广泛使用的癌症治疗方法之一。世界卫生组织(World Health Organization, WHO)在其医疗设备技术系列报告中指出, 放疗在肿瘤治愈的贡献比占到40%^[1]。但是放疗在杀伤肿瘤的同时可能对靶区周围的正常组织造成伤害, 临床治疗中可能为了减少正常组织中的辐射副反应而降低靶区剂量, 这限制了放疗疗效的提高。

超高剂量率放疗(ultra-high dose rate radiotherapy, FLASH-RT)是近年来肿瘤放疗领域内最前沿的研究方向之一。大量临床前数据表明: 相较于常规剂量率放疗(conventional dose rate radiotherapy, CONV-RT), 利用FLASH-RT(一般认为平均剂量率 >40 Gy/s)对实验动物进行短时间、大剂量照射后, 正常组织中的辐射损伤显著降低而肿瘤控制水平保持不变^[2-4]。这种特殊的生物效应被称为“FLASH效应”。FLASH效应在不同辐射

类型、患者及多种动物种类、照射部位中均得以观察到^[5-9], 预临床试验的广泛成功极大增强了放疗界对FLASH-RT临床应用的信心, 相关研究也迎来了井喷式发展。

1 FLASH-RT生物效应研究现状

FLASH-RT的相关研究最早可以追溯至20世纪50年代, 早期的研究主要利用离体培养的细菌和细胞开展实验。研究发现FLASH照射可以改变细胞的辐射敏感性, 提高细胞存活分数, 这一实验现象在细菌、正常细胞及肿瘤细胞中均有观察到^[10-12]。2014年, Favaudon等人^[2]首次利用动物开展FLASH-RT研究, 并发现FLASH-RT在抑制肿瘤生长方面与CONV-RT疗效一致, 同时FLASH-RT可以显著降低肺组织的纤维化和凋亡等, 这一研究报道迅速激发了广泛的研究兴趣和临床

引用格式: 朱红玉, 胡安康, 查皓, 等. 超高剂量率放疗(FLASH-RT)生物效应影响因素分析. 科学通报

Zhu H, Hu A, Zha H, et al. Impact factors on biological responses of ultra-high dose rate radiotherapy (in Chinese). Chin Sci Bull, doi: 10.1360/TB-2024-0838

转化动力。

近几年来,不同研究组分别基于小鼠、猪、犬以及猫等动物开展FLASH-RT临床前实验研究,观察到FLASH照射后各种动物肺部、肠道、神经系统、皮肤及胚胎等健康组织中的放射毒性显著降低^[2,6,9,13]。同时,实验研究表明FLASH照射在治疗肺癌、卵巢癌、胰腺癌、乳腺癌、胶质母细胞瘤等不同类型肿瘤时具有与CONV-RT一致的控制率^[2,8,14-16]。

FLASH-RT的临床转化正在逐步推进。2018年,首位患者在瑞士洛桑大学医院接受FLASH-RT治疗,该患者患有CD30⁺T细胞皮肤淋巴瘤并接受了15 Gy的FLASH-RT和CONV-RT治疗,经2年随访后确认两种治疗模式均能有效控制肿瘤生长,同时皮肤急性期和晚期反应无显著差别^[17,18]。2020年,美国辛辛那提儿童医院领导了FAST-01质子FLASH-RT临床I期研究,并于2023年发表研究结果。该临床研究成功入组10名患者进行骨转移癌痛姑息治疗,确认FLASH-RT用于缓解骨转移疼痛具有临床可行性与安全性^[4,19]。2023年,美国辛辛那提儿童医院领导开展FAST-02质子FLASH-RT临床II期研究,旨在评估FLASH-RT缓解疼痛的疗效与毒性,同时在临床环境中评估FLASH-RT工作流程^[20]。

随着FLASH-RT的临床前研究和临床转化广泛开展,有必要注意FLASH-RT并非完美的高效低毒放疗方案。大量团队研究和报道了FLASH效应的阳性实验结果,已发表的阴性结果数量虽少却不容忽视^[21-25]。表1总结了部分FLASH-RT临床前研究的阴性实验结果,从束流类型来看,涉及光子、电子与质子;从剂量分割策略来看,包括单次大剂量照射,也包括小剂量多次分割;从研究终点来看,包括多部位组织毒副作用。阴性研究结果的实验方案和束流条件较为分散,难以从中总结出统一的规律,有必要结合阴性与阳性数据共同辩证分析。本文根据已发表文献探讨FLASH-RT生物效应影响因素,为未来的实验研究和临床应用方案设计提供参考。

2 影响FLASH-RT生物效应的物理因素

2.1 剂量率

FLASH-RT与CONV-RT最关键的差异即为剂量率的不同,包括瞬时剂量率和平均剂量率。总体而言,肿瘤控制基本不受剂量率影响,但FLASH-RT对正常组织

保护的效应受剂量率显著影响。Montay-Gruel等人^[26]采用不同平均剂量率,包括0.1~500 Gy/s多脉冲或5.6 MGy/s单脉冲(1.8 μ s输出10 Gy)的电子束流对小鼠进行全脑放疗,放疗2个月后通过“新物体识别测试”检测小鼠的认知水平,以此评估电离辐射对小鼠脑功能的损伤。研究发现采用平均剂量率 ≥ 100 Gy/s的电子束流进行全脑照射后,小鼠认知水平相较于未接受辐照的对照组没有明显差异;采用平均剂量率30、60 Gy/s的电子束流进行全脑照射后,小鼠认知水平相较于对照组显著降低,但显著高于常规剂量率照射(0.1 Gy/s)后小鼠认知水平。以上研究结论提示,相较于CONV-RT,平均剂量率高于100 Gy/s的FLASH照射可以完全保护小鼠神经认知功能,这种保护效应随剂量率降低而削弱,在剂量率低于30 Gy/s后保护效应消失。结合Smyth等人^[21]和Venkatesulu等人^[22]发表的阴性结果,目前多数研究人员认为平均剂量率 >40 Gy/s为触发FLASH-RT正常组织保护效应的平均剂量率阈值,一般建议单次照射束流输出时间 <0.1 s^[27]。

FLASH-RT中的瞬时剂量率通常定义为脉冲内剂量率,通过不同设备和技术产生的FLASH-RT束流结构差异很大(如图1),目前常用的描述习惯为:瞬时剂量为宏脉冲内剂量率(常温直线/感应加速器)或微脉冲内剂量率(同步/超导加速器)。Bourhis等人^[28]及Montay-Gruel等人^[29]基于已发表的研究数据(主要是质子和电子)总结了不同瞬时剂量率以及束流输出时间是否能触发FLASH对正常组织的保护效应。汇总数据表明:对于质子和电子射线,瞬时剂量率 $>2 \times 10^5$ Gy/s更易产生FLASH效应;光子和重离子的瞬时剂量率阈值还需更多实验数据研究。

值得一提的是, Smyth等人^[21]采用平均剂量率37~41 Gy/s宽束同步辐射X射线进行小鼠全身照射及局部照射研究时,未观察到FLASH-RT与CONV-RT在中位毒性剂量(median toxic dose, TD₅₀)方面存在差异,但是Montay-Gruel等人^[30]采用平均剂量率37 Gy/s同步辐射X射线进行小鼠全脑辐照研究时却发现FLASH-RT能够显著保护神经认知功能。两项研究的差异在于:同步辐射束流的典型宽度通常为若干cm,但高度仅有若干 μ m~mm, Montay-Gruel等人^[30]使用的束流高度为50 μ m,而Smyth等人^[21]将束流高度展宽至1 mm,使得两项研究在扫描照射小鼠时剂量/剂量率在空间分布上差异可达^[30]20倍,这或许是导致两项实验结论不同的原因。

表1 部分FLASH-RT实验阴性实验结果^{a)}

Table 1 Partial negative experimental results of FLASH-RT

文献	FLASH-RT束流条件	生物终点	实验结论
Smyth等人 ^[21]	37~41 Gy/s, 宽束124 keV同步辐射光子, 多剂量梯度照射	小鼠全身、腹部、头部、胸部照射后正常组织毒性TD ₅₀	未观察到FLASH-RT减少正常组织损伤
Venkatesulu等人 ^[22]	35 Gy/s, 20 MeV电子, 包括单次、多次分割, 多剂量梯度照射	离体培养细胞克隆实验, 小鼠心脏和脾脏照射后淋巴细胞计数及全腹照射后存活率	FLASH-RT能更有效杀伤离体培养细胞, FLASH-RT未能减弱小鼠心脏及脾脏照射后淋巴细胞减少症, 腹部照射后, FLASH-RT诱发的肠道毒性更严重、小鼠存活率更低
Zhang等人 ^[23]	120 Gy/s, 228 MeV质子, 14~18 Gy×1次	小鼠腹部局部照射后存活率、肠道增殖及外周血淋巴细胞计数	FLASH-RT诱发的肠道和淋巴细胞毒性与CONV-RT没有显著差别, FLASH-RT导致小鼠存活率更低
Cuitiño等人 ^[24]	>100 Gy/s, 9 MeV电子, 5/8/16 Gy×1次	小鼠盆腹照射后性腺器官毒副反应	FLASH-RT对性腺的短期毒副反应与CONV-RT一致
Beyreuther等人 ^[25]	100 Gy/s, 224 MeV质子, 0~45 Gy×1次	斑马鱼胚胎受辐照后存活及发育畸变情况	未观察到FLASH-RT减少胚胎死亡或发育畸变

a) Smyth等人^[21]和Venkatesulu等人^[22]进行了小鼠全身照射及/或多个不同部位的局部照射, 文中涉及了多种剂量梯度实验研究, 为避免混乱, 建议读者阅读原文了解详细的参数设置

2.2 剂量分割策略

本文讨论中, 若干毫秒内一次性完成剂量递送的照射形式认为是单次分割, 间隔若干小时以上分次完成剂量递送的照射形式认为是多次分割。目前FLASH-RT的临床前研究和临床试验主要是基于单次分割大剂量照射开展, 采用多次剂量分割的研究相对较少。

对于单次分割大剂量研究而言, Copper等人^[31]采用不同梯度剂量的电子FLASH和CONV束流照射外周血淋巴细胞后检测DNA损伤, 实验发现单次剂量≤10 Gy时FLASH和CONV照射产生的DNA损伤无显著差别, 当单次剂量超过20 Gy时, FLASH照射诱发的DNA损伤显著低于CONV照射。Böhlen等人^[32]系统性比较了健康组织接受不同射线(包括质子、电子和光子)、不同照射剂量的FLASH和CONV照射后的毒副反应。该研究定义了FLASH获益因子(FLASH-modifying factors, FMF), 即达到相同程度副反应时CONV照射所需的剂量与FLASH照射所需剂量之比。FMF值接近1, 表明CONV照射与FLASH照射对正常组织造成的毒副反应一致; FMF值越小, 表明达到相同毒副反应时FLASH照射所需的剂量越高, 即FLASH照射减少毒副反应的程度越高。该研究指出FMF值随着单次照射剂量增加而降低, 且不同类型的组织FMF值各有差异。对于小鼠肠道, 大部分实验的照射剂量为10~25 Gy, 在这一区间内FLASH-RT相较于CONV-RT的毒副反应减少程度不高, FMF=0.92±0.06; 对于哺乳动物皮肤, 当单次照射剂量为10~25 Gy时, FMF=0.96±0.07, 当单次剂量>25 Gy时, FLASH-RT相较于CONV-RT能显著降低皮

肤副反应, FMF=0.71±0.06。

对于多次剂量分割研究而言, Vozenin和Limoli等人^[29,33~35]采用电子束研究了小鼠接受标准剂量分割(10×3 Gy, 间隔24小时)及大剂量分割(3×10 Gy, 间隔48小时; 2×7 Gy, 间隔24小时)的FLASH-RT或CONV-RT全脑放疗对脑功能的影响, 结果显示采用多次剂量分割的FLASH-RT相比于CONV-RT具有一致的肿瘤抑制率, 同时显著减少了神经炎症, 更好地保护了小鼠的认知和记忆。

值得重视的是, Vozenin等人^[5,36]领导了一项使用电子束的FLASH-RT动物临床III期研究, 采用1×30 Gy FLASH-RT或10×4.8 Gy CONV-RT治疗猫鳞状细胞癌。经短期和长期随访后发现, 在放疗6周内, FLASH-RT和CONV-RT治疗后均出现中等程度急性反应; 放疗1年后, 两种治疗方式后动物的肿瘤均完全缓解(complete remission, CR); 但是, 放疗9~15月后, FLASH-RT组3/7只动物出现上颌骨坏死, 而CONV-RT组未出现类似副反应。未来的研究设计中可以引入更多不同的剂量分割策略以系统性比较不同策略的生物效应差异。

结合单次大剂量照射和不同的剂量分割的FLASH-RT研究结果, 应当注意到, 不同的器官和研究终点的剂量响应存在明显差异。大部分研究表明, 单次照射剂量越大, FLASH-RT相较于CONV-RT的减毒效应越明显, 但需要警惕单次剂量过大导致的远期毒副反应。考虑到临床转化需求, 多次大剂量分割可能是FLASH-RT的优选治疗策略。

2.3 束流结构

总体而言, 目前能够产生FLASH束流的实验平台有限, 各研究团队依托的实验平台加速器技术的不同导致束流结构差异较大. 已公开报道可产生FLASH-RT束流的加速器方案主要包括常温直线加速器、同步加速器、超导加速器和感应加速器, 各类平台产生的典型束流结构如图1所示. 通常脉冲宽度 >10 ns为宏脉冲, <100 ps为微脉冲. 常温加速器束流结构中宏脉冲中包含若干个微脉冲; 感应加速器束流结构中只有若干宏脉冲, 没有微脉冲; 同步/超导加速器束流结构中只有若干个微脉冲, 不包含宏脉冲.

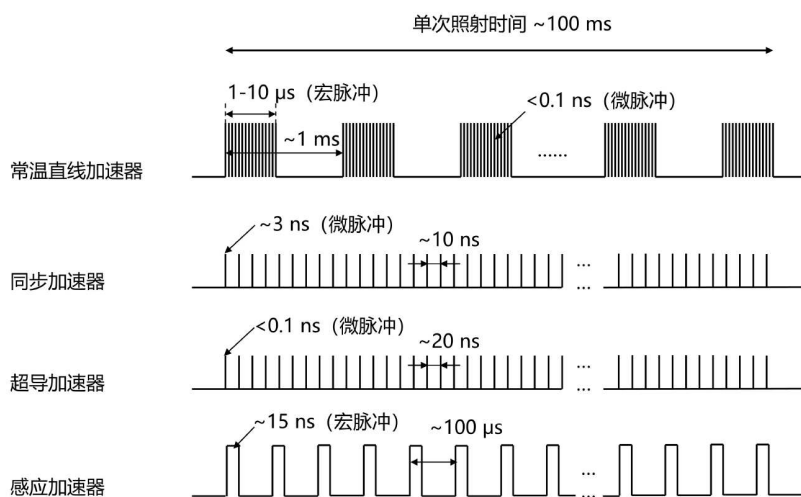
Ruan等人^[37]研究了不同束流结构的电子FLASH或CONV束流对小鼠全腹照射后的生物效应差异, 实验结果表明相较于CONV照射, FLASH照射可以显著提高全腹照射后肠道隐窝的存活比例, 保护肠道功能. 但是, FLASH照射对肠道的保护效应随着束流微脉冲个数或微脉冲间隔时间增加而消失. 对于质子FLASH而言, 研究表明单个宏脉冲FLASH照射能显著减少正常组织损伤, 当照射方式改为间隔2分钟多个宏脉冲FLASH照射时, 正常组织的保护效应会显著削弱甚至消失^[38,39]. Dai等人^[40]基于光子FLASH的实验研究表明, 单个和多个宏脉冲(每次间隔1分钟)FLASH照射均能减少小鼠放射性肺炎. Vozenin等人^[41]提出报道

FLASH实验时, 除了剂量与剂量率之外, 有必要清晰描述实验所使用束流的照射时间、脉冲重复频率、脉冲宽度、单个脉冲剂量等详细束流结构信息.

2.4 射线类型

目前的FLASH-RT临床前研究几乎涵盖了所有放疗可以使用的射线类型, 包括kV级X射线、MV级X射线、6~20 MeV中低能电子、150~250 MeV超高能电子(very high energy electron, VHEE)、质子及重离子. 总体而言, 不同类型射线的FLASH-RT对肿瘤的杀伤效率及对正常组织的保护效应表现较为一致. 值得注意的是, 质子和重离子FLASH-RT在抗肿瘤疗效方面可能具有潜在优势. Shukla等人^[42]报道质子FLASH-RT对Lewis肺癌的杀伤作用优于质子CONV-RT, Tinganelli等人^[43]报道 ^{12}C FLASH-RT相较于 ^{12}C CONV-RT能更有效减少骨肉瘤肺转移. 但关于FLASH-RT可能提高抗肿瘤疗效的报道仅限于这两篇研究, 该结论是否可以推广还需更广泛的实验数据证明.

不同的射线类型在FLASH-RT的临床转化方面均存在一定的局限性. kV级X射线和中低能电子射程较短, 只适用于表浅靶区治疗. VHEE具有射程长、半影小的优势, 但现有的射频直线加速器无法在目前的临床机房空间内提供如此高的加速梯度, 如果增加加速



注1: 平均剂量率定义为单次照射时间内剂量率;

注2: 瞬时剂量率通常定义为宏脉冲内剂量率(常温直线/感应加速器)或微脉冲内剂量率(同步/超导加速器);

注3: 通常脉冲宽度 >10 ns为宏脉冲, <100 ps为微脉冲

图1 不同类型加速器产生的FLASH-RT束流典型结构示意图

Figure 1 Schematic diagram of the typical beam structures for FLASH-RT produced by different types of accelerators

器长度将显著提高其临床转化成本,需要发展新的加速技术以构建紧凑的VHEE加速器^[44]。MV级X射线通过韧致辐射产生,该反应的转换效率有限,产生MV级X射线FLASH束流对加速器功率提出较高要求,且高通量电子轰击靶产生的瞬时热沉积可能导致靶材料熔毁,这对加速器的热机械应力和冷却条件提出挑战^[45]。目前国内以清华大学、中国工程物理研究院及其合作单位为代表的研究团队已经在MV级X射线FLASH-RT研究方向作出了突出的贡献^[15,46-49]。

质子FLASH束流可以通过激光驱动产生^[50-52],但目前产生的束流能量通常较低,射程较短。质子和重离子FLASH束流也可通过改造医用加速器产生,但是同步加速器受加速器电流或单次引出的离子数目的限制,目前能够产生的FLASH-RT射野偏小。目前质子和重离子FLASH-RT的研究主要采用坪区穿透照射,较少利用布拉格峰的特殊优势。这主要出于以下几方面考虑:①坪区透射容易获得均匀的剂量和剂量率分布,便于控制变量进行生物效应比较;②使用坪区无需考虑射程的不确定性,实验方案简单易行;③在布拉格峰区内,射线能量较为复杂,其传能线密度(linear energy transfer, LET)和相对生物效应(relative biological effect, RBE)变化范围较大,可能对生物效应分析带来更多的不确定性。如果采用展宽布拉格峰(spread out Bragg peak, SOBP)进行照射,尚需解决百毫秒内束流能量快速调节的问题,目前回旋质子加速器采用机械方式切换不同降能片的方式调节能量,但其切换速度很难在百毫秒内实现足够的扫描层数。同步加速器可在现有的技术上直接采用阶梯式降低磁场的方法快速引出不同能量档的离子,但该方案在束流稳定性的保持上存在巨大挑战,目前仅有方案设计尚无实验研究。一些研究者也正在开发相应的脊型过滤器实现单能SOBP^[53-55],这种方案避免了束流能量调节,可以缩减出束时间,但需要注意的是脊型过滤器的制作和摆位对精度要求较高^[56]。此外,如采用笔形束扫描方式照射靶区,扫描速度也需比现有速度提高2个量级以上^[57],同时束流在扫描路径上的运动将会导致剂量率在时间和空间上的不均匀分布,这使得剂量率评估更为复杂。

3 影响FLASH-RT生物效应的生化因素

3.1 氧含量

氧含量是影响辐射生物效应的关键因素之一,

FLASH-RT生物效应也受到氧含量的调控。一系列离体培养细胞实验数据表明,在富氧条件下,FLASH照射和CONV照射后细胞存活分数或DNA损伤没有统计差异,但是在乏氧条件下,FLASH照射后细胞存活分数相较于CONV照射显著提高,DNA损伤显著降低^[31,58,59]。在动物实验中,Iturri等人^[60]采用不同含氧量的气体麻醉大鼠后进行脑部质子FLASH照射,实验结果发现,相较于高氧麻醉,采用低氧气体麻醉后的大鼠皮肤损伤显著降低。Montay-Gruel等人^[6]研究发现,采用FLASH或CONV对小鼠进行全脑照射时,FLASH照射可以显著保护小鼠的神经认知功能,但是如果在FLASH照射时对小鼠进行吸氧干预,这种保护效应会被显著削弱。

在肿瘤响应方面,Leavitt等人^[61]对接种了胶质瘤、头颈癌和肺腺癌的小鼠进行FLASH-RT或CONV-RT治疗,治疗时将肿瘤用血管钳夹住或通过控制呼吸气体氧浓度改变肿瘤氧合水平。实验结果表明,采用CONV-RT治疗时,经血管钳干预的肿瘤相较于未干预状态肿瘤控制水平降低,但是采用FLASH-RT治疗时肿瘤控制效率不受血管钳干预影响,即FLASH-RT能够克服血管钳干预后肿瘤乏氧导致的辐射抵抗。值得注意的是,Iturri等人^[60]研究发现,氧含量的改变会显著影响CONV-RT治疗后肿瘤内免疫微环境,即富氧条件下肿瘤内免疫细胞浸润程度显著降低,相较而言,氧浓度变化对FLASH-RT治疗后肿瘤内免疫细胞的浸润影响较小。这表明FLASH-RT和CONV-RT治疗调控的炎症/免疫响应通路存在差异,例如经典的缺氧诱导因子1(Hypoxia-Inducible Factor-1, HIF-1)通路就与氧含量高度相关^[62]。FLASH-RT与CONV-RT调控的分子信号通路差异还需更深入地研究以阐释两种治疗模式的生物效应差异。

氧含量变化是影响FLASH-RT正常组织保护、肿瘤控制及肿瘤微环境变化的关键因素之一。氧含量对FLASH-RT生物效应的调控影响及其生物机制是一个庞大的话题,更多讨论读者可以查阅文献^[63-66]深入了解。

3.2 研究对象及生物终点

不同组织器官的辐射敏感性有所不同,接受FLASH治疗后的获益程度也存在差异。如前所述,Böhlen等人^[32]研究了不同组织器官受到单次大剂量照射后的FLASH相较于CONV照射减少组织副反应的获益比值,在<25 Gy剂量区间范围内,相较于CONV照射,

表2 FLASH-RT生物效应影响因素总结

Table 2 Summary of impact factors on biological responses of FLASH-RT

分类	影响因素	说明	文献
物理类	剂量率	建议单次照射束流输出时间<0.1 s, 平均剂量率>40 Gy/s, 瞬时剂量率>2×10 ⁵ Gy/s	[28~30]
	剂量分割策略	单次分割大剂量照射可触发更显著的正常组织保护效应, 但需警惕远期毒副反应, 多次大剂量分割可能是临床转化方向	[29,32,34,36]
	束流结构	建议减少脉冲数量, 缩短脉冲间隔	[37~39]
	射线类型	不同类型射线的生物效应表现较为一致	[32,42,43]
生化类	氧含量	氧含量变化可以逆转FLASH-RT对于正常组织保护效应, 也可能影响肿瘤免疫微环境	[6,60,61]
	研究对象	不同组织器官对FLASH-RT的生物响应存在显著区别	[32]
	生物终点	生物效应的不同表征指标、选取急性反应或远期反应作为终点会影响FLASH-RT研究结论	[9,67]

FLASH照射对神经认知功能和肺功能损伤可减少20%以上(FMF<0.8), 而FLASH照射对肠道、皮肤的损伤减少<10%(FMF>0.9).

研究终点也显著影响FLASH-RT生物效应的临床前研究结论. 例如, Ohsawa等人^[67]发现研究FLASH-RT条件下的DNA损伤时, 选择DNA单链断裂(single strand break, SSB)或双链断裂(double strand break, DSB)作为研究终点得到的结论就大不相同, FLASH-RT诱发的SSB产额显著低于CONV-RT, 而DSB产额与CONV-RT没有明显的统计差异. 此外, 选取急性反应或远期反应作为终点也会影响研究结论. 例如, Zhu等人^[9]检测了小鼠接受全腹放疗后外周血细胞因子表达水平, 实验结果表明在放疗结束24 h后, FLASH-RT和CONV-RT均诱发外周血炎症细胞因子表达水平显著升高, 但是放疗结束6周后, FLASH-RT组内外周血炎症细胞因子

表达水平恢复至未照射对照组相似水平, 而CONV-RT组持续高表达炎症细胞因子. 该研究表明FLASH-RT在放疗急性反应期可能诱发强烈的炎症响应, 但是可能更好地调节炎症响应的远期恢复.

4 总结

FLASH-RT由于其独特的高效低毒生物效应而受到广泛关注, 随着越来越多研究团队投入此领域, 相关研究发表数量呈指数增长. FLASH-RT高效低毒的特征被广泛证实的同时也应当客观分析相关阴性结果. 如表2所示, 本文结合已发表研究数据系统性梳理了剂量率、剂量分割策略、束流结构、射线类型等物理因素以及氧含量、器官类型和研究终点等生化因素对FLASH生物效应的影响, 为未来的FLASH-RT临床前实验方案的设计和临床转化提供了重要参考.

参考文献

- 1 World Health Organization. WHO List of Priority Medical Devices for Cancer Management. Geneva: World Health Organization, 2017. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
- 2 Favaudon V, Caplier L, Monceau V, et al. Ultrahigh dose-rate FLASH irradiation increases the differential response between normal and tumor tissue in mice. *Sci Transl Med*, 2014, 6: 245ra293
- 3 Vozenin M C, Bourhis J, Durante M. Towards clinical translation of FLASH radiotherapy. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19: 791–803
- 4 Mascia A E, Daugherty E C, Zhang Y, et al. Proton FLASH radiotherapy for the treatment of symptomatic bone metastases. *JAMA Oncol*, 2023, 9: 62–69
- 5 Vozenin M C, De Fornel P, Petersson K, et al. The advantage of FLASH radiotherapy confirmed in mini-pig and cat-cancer patients. *Clin Cancer Res*, 2019, 25: 35–42
- 6 Montay-Gruel P, Acharya M M, Petersson K, et al. Long-term neurocognitive benefits of FLASH radiotherapy driven by reduced reactive oxygen species. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116: 10943–10951
- 7 Børresen B, Arendt M L, Konradsson E, et al. Evaluation of single-fraction high dose FLASH radiotherapy in a cohort of canine oral cancer patients. *Front Oncol*, 2023, 13: 1256760
- 8 Zhu H, Xie D, Wang Y, et al. Comparison of intratumor and local immune response between MV X-ray FLASH and conventional radiotherapies. *Clin Transl Radiat Oncol*, 2023, 38: 138–146

- 9 Zhu H, Xie D, Yang Y, et al. Radioprotective effect of X-ray abdominal FLASH irradiation: adaptation to oxidative damage and inflammatory response may be benefiting factors. *Med Phys*, 2022, 49: 4812–4822
- 10 Weiss H, Epp E R, Heslin J M, et al. Oxygen depletion in cells irradiated at ultra-high dose-rates and at conventional dose-rates. *Int J Radiat Biol Relat Studies Phys Chem Med*, 1974, 26: 17–29
- 11 Berry R J, Stedeford J B H. Reproductive survival of mammalian cells after irradiation at ultra-high dose-rates: further observations and their importance for radiotherapy. *BJR*, 1972, 45: 171–177
- 12 Dewey D L, Boag J W. Modification of the oxygen effect when bacteria are given large pulses of radiation. *Nature*, 1959, 183: 1450–1451
- 13 Karsch L, Pawelke J, Brand M, et al. Beam pulse structure and dose rate as determinants for the flash effect observed in zebrafish embryo. *Radiother Oncol*, 2022, 173: 49–54
- 14 Levy K, Natarajan S, Wang J, et al. Abdominal FLASH irradiation reduces radiation-induced gastrointestinal toxicity for the treatment of ovarian cancer in mice. *Sci Rep*, 2020, 10: 21600
- 15 Gao F, Yang Y, Zhu H, et al. First demonstration of the FLASH effect with ultrahigh dose rate high-energy X-rays. *Radiother Oncol*, 2022, 166: 44–50
- 16 Iturri L, Bertho A, Lamirault C, et al. Proton FLASH radiation therapy and immune infiltration: evaluation in an orthotopic glioma rat model. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2023, 116: 655–665
- 17 Gaide O, Herrera F, Jeanneret Sozzi W, et al. Comparison of ultra-high versus conventional dose rate radiotherapy in a patient with cutaneous lymphoma. *Radiother Oncol*, 2022, 174: 87–91
- 18 Bourhis J, Sozzi W J, Jorge P G, et al. Treatment of a first patient with FLASH-radiotherapy. *Radiother Oncol*, 2019, 139: 18–22
- 19 Daugherty E C, Mascia A, Zhang Y, et al. FLASH radiotherapy for the treatment of symptomatic bone metastases (FAST-01): protocol for the first prospective feasibility study. *JMIR Res Protoc*, 2023, 12: e41812
- 20 Daugherty E C, Zhang Y, Xiao Z, et al. FLASH radiotherapy for the treatment of symptomatic bone metastases in the thorax (FAST-02): protocol for a prospective study of a novel radiotherapy approach. *Radiat Oncol*, 2024, 19: 34
- 21 Smyth L M L, Donoghue J F, Ventura J A, et al. Comparative toxicity of synchrotron and conventional radiation therapy based on total and partial body irradiation in a murine model. *Sci Rep*, 2018, 8: 1
- 22 Venkatesulu B P, Sharma A, Pollard-Larkin J M, et al. Ultra high dose rate (35 Gy/sec) radiation does not spare the normal tissue in cardiac and splenic models of lymphopenia and gastrointestinal syndrome. *Sci Rep*, 2019, 9: 17180
- 23 Zhang Q, Gerweck L E, Cascio E, et al. Absence of tissue-sparing effects in partial proton FLASH irradiation in murine intestine. *Cancers*, 2023, 15: 2269
- 24 Cuitiño M C, Fleming J L, Jain S, et al. Comparison of gonadal toxicity of single-fraction ultra-high dose rate and conventional radiation in mice. *Adv Radiat Oncol*, 2023, 8: 101201
- 25 Beyreuther E, Brand M, Hans S, et al. Feasibility of proton FLASH effect tested by zebrafish embryo irradiation. *Radiother Oncol*, 2019, 139: 46–50
- 26 Montay-Gruel P, Petersson K, Jaccard M, et al. Irradiation in a flash: unique sparing of memory in mice after whole brain irradiation with dose rates above 100 Gy/s. *Radiother Oncol*, 2017, 124: 365–369
- 27 Wilson J D, Hammond E M, Higgins G S, et al. Ultra-high dose rate (FLASH) radiotherapy: silver bullet or fool's gold? *Front Oncol*, 2020, 9: 1563
- 28 Bourhis J, Montay-Gruel P, Gonçalves Jorge P, et al. Clinical translation of FLASH radiotherapy: why and how? *Radiother Oncol*, 2019, 139: 11–17
- 29 Montay-Gruel P, Acharya M M, Gonçalves Jorge P, et al. Hypofractionated FLASH-RT as an effective treatment against glioblastoma that reduces neurocognitive side effects in mice. *Clin Cancer Res*, 2021, 27: 775–784
- 30 Montay-Gruel P, Bouchet A, Jaccard M, et al. X-rays can trigger the FLASH effect: ultra-high dose-rate synchrotron light source prevents normal brain injury after whole brain irradiation in mice. *Radiother Oncol*, 2018, 129: 582–588
- 31 Cooper C R, Jones D, Jones G D, et al. FLASH irradiation induces lower levels of DNA damage *ex vivo*, an effect modulated by oxygen tension, dose, and dose rate. *BJR*, 2022, 95: 20211150
- 32 Böhlen T T, Germond J F, Bourhis J, et al. Normal tissue sparing by FLASH as a function of single-fraction dose: a quantitative analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2022, 114: 1032–1044
- 33 Alaghband Y, Allen B D, Kramár E A, et al. Uncovering the protective neurologic mechanisms of hypofractionated FLASH radiotherapy. *Cancer Res Commun*, 2023, 3: 725–737
- 34 Limoli C L, Kramár E A, Almeida A, et al. The sparing effect of FLASH-RT on synaptic plasticity is maintained in mice with standard fractionation. *Radiother Oncol*, 2023, 186: 109767
- 35 Allen B D, Alaghband Y, Kramár E A, et al. Elucidating the neurological mechanism of the FLASH effect in juvenile mice exposed to hypofractionated radiotherapy. *Neuro-Oncology*, 2023, 25: 927–939

- 36 Rohrer Bley C, Wolf F, Gonçalves Jorge P, et al. Dose- and volume-limiting late toxicity of FLASH radiotherapy in cats with squamous cell carcinoma of the nasal planum and in mini pigs. *Clin Cancer Res*, 2022, 28: 3814–3823
- 37 Ruan J L, Lee C, Wouters S, et al. Irradiation at ultra-high (FLASH) dose rates reduces acute normal tissue toxicity in the mouse gastrointestinal system. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2021, 111: 1250–1261
- 38 Mascia A, McCauley S, Speth J, et al. Impact of multiple beams on the FLASH effect in soft tissue and skin in mice. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2024, 118: 253–261
- 39 Sørensen B S, Kanouta E, Ankjærgaard C, et al. Proton FLASH: impact of dose rate and split dose on acute skin toxicity in a murine model. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2024, 120: 265–275
- 40 Dai Y, Liang R, Wang J, et al. Fractionated FLASH radiation in xenografted lung tumors induced FLASH effect at a split dose of 2 Gy. *Int J Radiat Biol*, 2023, 99: 1542–1549
- 41 Vozenin M C, Montay-Gruel P, Limoli C, et al. All irradiations that are ultra-high dose rate may not be FLASH: the critical importance of beam parameter characterization and *in vivo* validation of the FLASH effect. *Radiat Res*, 2020, 194: 571–572
- 42 Shukla S, Saha T, Rama N, et al. Ultra-high dose-rate proton FLASH improves tumor control. *Radiother Oncol*, 2023, 186: 109741
- 43 Tinganelli W, Weber U, Puspitasari A, et al. FLASH with carbon ions: tumor control, normal tissue sparing, and distal metastasis in a mouse osteosarcoma model. *Radiother Oncol*, 2022, 175: 185–190
- 44 Borghini A, Labate L, Piccinini S, et al. FLASH radiotherapy: expectations, challenges, and current knowledge. *Int J Mol Sci*, 2024, 25: 2546
- 45 Esplen N, Mendonca M S, Bazalova-Carter M. Physics and biology of ultrahigh dose-rate (FLASH) radiotherapy: a topical review. *Phys Med Biol*, 2020, 65: 23TR03
- 46 Liu F, Zhang L, Zhang X, et al. Development of a multi-angle ultrahigh dose rate MV-level X-ray radiation system for FLASH radiotherapy clinical transformation. In: 15th International Particle Accelerator Conference. 2024, doi: 10.18429/JACoW-IPAC2024-THPR60
- 47 Yang Y, Wang J, Gao F, et al. FLASH radiotherapy using high-energy X-rays: current status of PARTER platform in FLASH research. *Radiother Oncol*, 2024, 190: 109967
- 48 Liu F, Shi J, Zha H, et al. Development of a compact linear accelerator to generate ultrahigh dose rate high-energy X-rays for FLASH radiotherapy applications. *Med Phys*, 2023, 50: 1680–1698
- 49 Shi X, Yang Y, Zhang W, et al. FLASH X-ray spares intestinal crypts from pyroptosis initiated by cGAS-STING activation upon radioimmunotherapy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119: e2208506119
- 50 Yang G, Lu C, Mei Z, et al. Association of cancer stem cell radio-resistance under ultra-high dose rate FLASH irradiation with lysosome-mediated autophagy. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 672693
- 51 Han J, Mei Z, Lu C, et al. Ultra-high dose rate FLASH irradiation induced radio-resistance of normal fibroblast cells can be enhanced by hypoxia and mitochondrial dysfunction resulting from loss of cytochrome c. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 672929
- 52 Kroll F, Brack F E, Bernert C, et al. Tumour irradiation in mice with a laser-accelerated proton beam. *Nat Phys*, 2022, 18: 316–322
- 53 Kristensen L, Poulsen P R, Kanouta E, et al. Spread-out Bragg peak FLASH: quantifying normal tissue toxicity in a murine model. *Front Oncol*, 2024, 14: 1427667
- 54 Liu Z Q, Zhou L R, Zhang Q N, et al. Research on the beam delivery method of carbon ion beam FLASH irradiation experiment (in Chinese). *Chin J Radiat Oncol*, 2024, 33: 548–553 [刘志强, 周利荣, 张秋宁, 等. 碳离子束FLASH照射实验束流配送方式的研究. 中华放射肿瘤学杂志, 2024, 33: 548–553]
- 55 Kang M, Wei S, Choi J I, et al. A universal range shifter and range compensator can enable proton pencil beam scanning single-energy bragg peak FLASH-RT treatment using current commercially available proton systems. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2022, 113: 203–213
- 56 Zeng Y L, Quan H. Considerations and current status of treatment planning for proton FLASH radiotherapy (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2023, 68: 4231–4244 [曾伊玲, 全红. 全质子FLASH放疗计划设计的考虑因素及现状分析. 科学通报, 2023, 68: 4231–4244]
- 57 Jolly S, Owen H, Schippers M, et al. Technical challenges for FLASH proton therapy. *Physica Medica*, 2020, 78: 71–82
- 58 Adrian G, Konradsson E, Lempart M, et al. The FLASH effect depends on oxygen concentration. *Br J Radiol*, 2020, 93: 20190702
- 59 Tessonnier T, Mein S, Walsh D W M, et al. FLASH dose rate helium ion beams: first *in vitro* investigations. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2021, 111: 1011–1022
- 60 Iturri L, Bertho A, Lamirault C, et al. Oxygen supplementation in anesthesia can block FLASH effect and anti-tumor immunity in conventional proton therapy. *Commun Med*, 2023, 3: 183
- 61 Leavitt R J, Almeida A, Grilj V, et al. Acute hypoxia does not alter tumor sensitivity to FLASH radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2024, 119: 1493–1505
- 62 Ohta A. Oxygen-dependent regulation of immune checkpoint mechanisms. *Int Immunol*, 2018, 30: 335–343
- 63 Zhu H Y, Zhang Q X, Deng X W. Research progress on the oxygen depletion hypothesis of ultra-high dose rate radiotherapy (in Chinese). *Chin J Radiat Oncol*, 2023, 32: 379–383 [朱红玉, 张奇贤, 邓小武. 超高剂量率(FLASH)放疗氧消耗假说的研究进展. 中华放射肿瘤学杂志, 2023, 32:

379–383]

- 64 Liew H, Mein S, Dokic I, et al. Deciphering time-dependent DNA damage complexity, repair, and oxygen tension: a mechanistic model for FLASH-dose-rate radiation therapy. [Int J Radiat Oncol Biol Phys](#), 2021, 110: 574–586
- 65 Favaudon V, Labarbe R, Limoli C L. Model studies of the role of oxygen in the FLASH effect. [Med Phys](#), 2022, 49: 2068–2081
- 66 Boscolo D, Scifoni E, Durante M, et al. May oxygen depletion explain the FLASH effect? A chemical track structure analysis. [Radiother Oncol](#), 2021, 162: 68–75
- 67 Ohsawa D, Hiroshima Y, Kobayashi A, et al. DNA strand break induction of aqueous plasmid DNA exposed to 30 MeV protons at ultra-high dose rate. [J Radiat Res](#), 2022, 63: 255–260

Summary for “超高剂量率放疗(FLASH-RT)生物效应影响因素分析”

Impact factors on biological responses of ultra-high dose rate radiotherapy

Hongyu Zhu^{1,2}, Ankang Hu³, Hao Zha³, Ruotong Chen^{1,4} & Xiaowu Deng^{1,2*}

¹ Department of Radiation Oncology, Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, China

² United Laboratory of Frontier Radiotherapy Technology of Sun Yat-sen University & Chinese Academy of Sciences Ion Medical Technology Co., Ltd., Guangzhou 510060, China

³ Department of Engineering Physics, Tsinghua University, Beijing 100084, China

⁴ Sino-French Institute of Nuclear Engineering and Technology, Sun Yat-sen University, Zhuhai 519082, China

* Corresponding author, E-mail: dengxw@susucc.org.cn

Ultra-high dose rate radiotherapy (FLASH-RT) has emerged as a hot topic in the field of radiotherapy in recent years. A series of experimental data indicate that FLASH-RT can effectively kill tumors while significantly spare normal tissues from radiation damage. This unique phenomenon is known as the FLASH effect. Whether the FLASH effect is triggered or not is influenced by various factors, including physical parameters and biochemical parameters. Physical parameters include dose rate, total dose, dose fractionation strategy, and beam structure, whereas biochemical parameters include tissue oxygenation level, tissue type, and biological endpoint. Adjusting these parameters can have differing degrees of impact on tissue responses to FLASH-RT. For instance, experimental data indicate that, compared to conventional radiation therapy (CONV-RT), FLASH-RT with an average dose rate exceeding 100 Gy/s can completely protect mice's cognitive function. However, this protective effect diminishes as the dose rate decreases and disappears when the dose rate falls below 30 Gy/s. A review of published data suggests that the degree of reduction in normal tissue toxicity by FLASH-RT is influenced by the dose in a single fraction. Higher single doses result in greater reductions in toxicity, but excessively high doses can trigger severe late-stage adverse effects, which warrant caution. For beam structure and radiation type, the types of radiation currently used in preclinical FLASH-RT research include low-energy electrons, very high energy electrons (VHEE), low-energy X-rays, high-energy X-rays, protons, and heavy ions. Overall, the biological effects of FLASH-RT produced by different types of radiation are similar and consistent. However, the technical routes used to generate FLASH-RT beams reported in the literature vary widely, and the beam structures used in different studies differ significantly. It is necessary to clearly describe the detailed beam structure information used in experiments, including dose, dose rate, irradiation time, pulse repetition frequency, pulse width, and single pulse dose. Regarding biochemical factors, oxygen concentration is one of the key factors affecting radiobiological effects. The biological effects of FLASH-RT are also regulated by oxygen content, but it is worth investigating the differential responses of normal and tumor tissues to changes in oxygen content induced by FLASH-RT. The radiation sensitivity of different tissues and organs varies, leading to differences in the benefits gained from FLASH-RT. Additionally, the choice of study endpoints significantly impacts the conclusions of preclinical research on the biological effects of FLASH-RT. For instance, using different markers of DNA damage or analyzing acute versus late-phase indicators post-radiotherapy may yield different conclusions. This study will systematically analyze the effects of physical and biochemical parameters on the FLASH effect based on published experimental data, and the findings will provide useful suggestions for further research on FLASH biological effects.

ultra-high dose rate radiotherapy, FLASH-RT, biological effect, impact factors

doi: [10.1360/TB-2024-0838](https://doi.org/10.1360/TB-2024-0838)