

γ 射线与电磁辐射联合对白血病细胞的作用研究

刘晓秋 赵文正 赵阿津

(中国医学科学院放射医学研究所 天津 300192)

摘要 采用了细胞计数、细胞形态学、流式细胞仪分析方法,用 ^{137}Cs 照射源,剂量4Gy,磁场强度10MT,频率250Hz照射人早幼粒白血病细胞(HL-60细胞),研究了 γ 射线与电磁辐射联合对白血病细胞的作用。结果表明,单独 γ 射线和单独磁场照射均能不同程度地杀伤HL-60细胞,但 γ 射线与电磁辐射联合作用杀伤HL-60细胞能力更强。电磁场能增加 γ 射线杀伤HL-60细胞是通过增加 γ 射线诱导HL-60细胞凋亡的发生。

关键词 γ 射线, 电磁辐射, 细胞凋亡, HL-60细胞

中图分类号 R811.5, Q64

应用电磁场杀伤恶性肿瘤是近年来备受关注的课题。人们用各种不同的磁场和强度来研究磁场对恶性肿瘤的作用^[1,2]。但绝大多数作者是研究单独磁场对肿瘤细胞的杀伤作用^[3,4],电磁场与电离辐射联合对肿瘤细胞的作用研究国内外报道很少。本工作应用新研制的MRZ型电磁辐射仪研究了电磁场与电离辐射联合对白血病细胞的作用,并探讨其作用和机理,为将来应用于临床提供依据。

1 材料和方法

1.1 细胞培养

采用RPMI1640培养基加10%小牛血清,37℃,5%CO₂条件下培养HL-60细胞,将对数生长期细胞以等量 2×10^5 细胞数分别接种到16瓶50mL培养瓶内,随机分成4组,每组4瓶,分别为对照组、磁场组、 γ 射线组、磁场加 γ 射线组。

1.2 照射条件

第1天将细胞置于磁场强度为10MT、频率为250Hz条件下照射2h,第2天细胞经 ^{137}Cs γ 射线(剂量率为90.18cGy/min)照射4Gy后,再经磁场照射2h,第3天磁场再照射2h。

1.3 台盼蓝活细胞染色

用0.4%台盼蓝与等体积细胞悬液混合后,分别置普通光镜下观察,确定死亡细胞数。

1.4 细胞形态学检测

取细胞经离心涂片机甩片后瑞氏染色,镜下观察凋亡细胞形态及凋亡小体。

1.5 流式细胞仪检测

取不同条件照射后的细胞,离心去掉培养液,0.01Mol PBS冲洗2次,加入0.01%RNA酶溶液100 μL ,37℃水浴30min。应用FCM-EPICS型流式细胞仪,用Cellfit软件收集细胞,并

国家自然科学基金(39570231)资助

第一作者:刘晓秋,女,1959年9月出生,1984年毕业于长春白求恩医科大学,放射医学专业,副研究员

收稿日期:初稿2001-06-05, 修回2001-07-29

分析数据, 每个样品收集 1×10^4 个细胞。

2 结果

2.1 HL-60 细胞数量变化

采用台盼蓝拒染法对磁场照射后第 5 天细胞进行存活计数, 结果见表 1。

Tab.1 Change of HL-60 cell quantity after exposing to γ ray and electromagnetic field

Groups	Death rate of cells/%	Number of survival cells/ $\times 10^4 \cdot \text{mL}^{-1}$
Control	1.31	282.5 ± 9.22
Magnetic field	22.81	72.8 ± 2.38
γ ray	8.13	153.5 ± 7.32
γ ray and magnetic field	78.87	10.3 ± 1.24

由表 1 可见, γ 射线加磁场组细胞死亡率为 78.87%, 明显高于其它 3 组, 而活细胞数为 $10.3 \times 10^4 \cdot \text{mL}^{-1}$, 明显低于其它 3 组。经统计学处理, γ 射线加磁场组细胞死亡率与单独 γ 射线组和单独磁场组相比差异均显著 ($p < 0.01$)。 γ 射线加磁场组活细胞数与单独 γ 射线组和单独磁场组相比, 也均有显著性差异 ($p < 0.01$)。

2.2 HL-60 细胞形态学变化

对照组、磁场组、 γ 射线及 γ 射线加磁场组每组均观察 1×10^3 个细胞。从细胞形态学观察可看到, 细胞经磁场照射后第 3 天, γ 射线加磁场组细胞开始出现典型的细胞凋亡形态。光镜下部分细胞体积明显变小, 胞膜皱缩, 胞核固缩, 染色质浓染; 有的细胞表现为核碎裂, 个别细胞部分胞浆崩解为碎片状, 可见由膜包裹内容物的所谓凋亡小体形成 (见图 1)。

由表 2 可见, γ 射线加磁场组凋亡小体阳检率明显高于 γ 射线组, γ 射线加磁场组凋亡小体阳检率为 3.6%, 经统计学处理, 与单独 γ 射线组相比差异显著 ($p < 0.05$)。 γ 射线加磁场组凋亡细胞阳检率明显高于单独 γ 射线组和单独磁场组, γ 射线加磁场组凋亡细胞阳检率为 40.8%, 经统计学处理, 与 γ 射线组及磁场组相比均有显著性差异 ($p < 0.01$)。

Tab.2 Change of HL-60 cell morphology after exposing to γ ray and electromagnetic field (%)

Groups	Positive rate of apoptotic cells	Positive rate of apoptotic bodies
Control	0.2	0
Magnetic field	2.0	0
γ ray	16.8	0.6
γ ray and magnetic field	40.8	3.6

2.3 HL-60 细胞 DNA 含量分析

细胞经磁场照射后第 3 天, 磁场组、 γ 射线组或磁场加 γ 射线组细胞 DNA 直方图上 G_0/G_1 峰前均出现细胞凋亡时特有的低宽亚二倍体 DNA 波峰, 既为程序化死亡细胞峰。从出现的百分率上看, 磁场加 γ 射线组凋亡细胞为 33.36%, 明显高于单独 γ 射线 (18.65%) 和单独磁场组 (9.84%)。

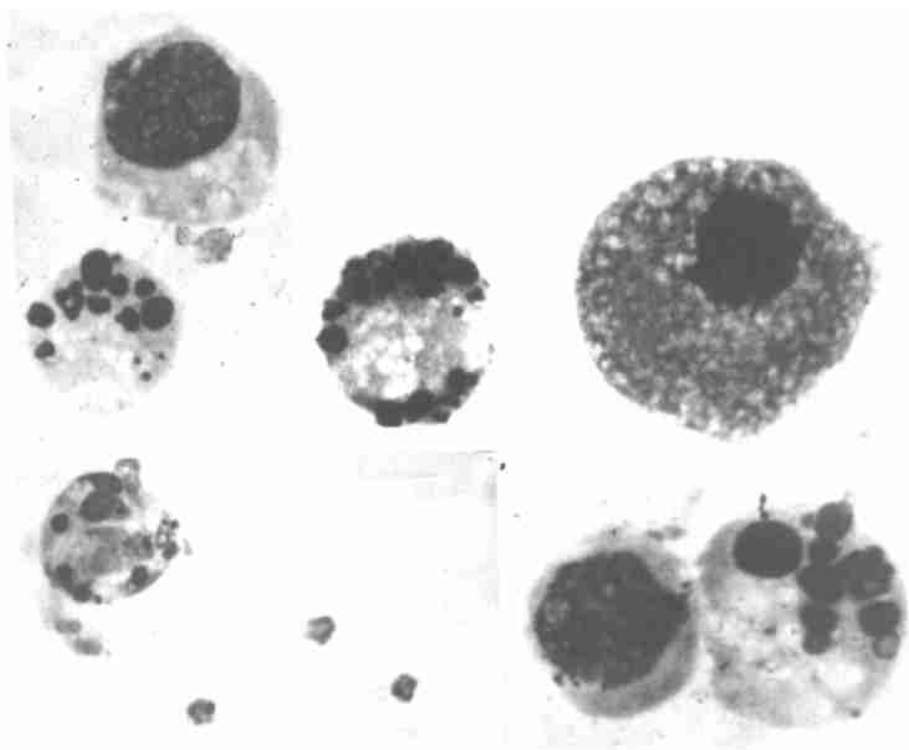


Fig.1 Apoptotic morphology of HL-60 cells after exposing to γ ray and electromagnetic field

3 讨论

实验证明,γ 射线和电磁场对白血病细胞均有杀伤作用,但 γ 射线和电磁场联合对白血病细胞杀伤作用更强,这种杀伤作用在磁场作用后第 5 天可明显观察到,肿瘤细胞出现空泡性改变,核固缩、破裂、溶解、出现坏死。而且随着时间的推移肿瘤细胞坏死更为明显。细胞死亡有两种不同方式,即细胞坏死和细胞凋亡。细胞坏死是在细胞受到重大损伤刺激后的一种病理变化。细胞凋亡是细胞对非急性致死的有害性刺激协调适应性反应的体现,是一个利它的细胞自杀过程^[5]。研究表明,单独磁场照射和单独 γ 射线照射均可诱导肿瘤细胞凋亡^[6,7]。在肿瘤放疗中,理想的结果是引起肿瘤细胞凋亡,而对正常细胞无影响,研究电磁场与 γ 射线联合作用于肿瘤细胞旨在最大限度地杀死肿瘤细胞,而保护正常组织以提高疗效。HL-60 细胞经电磁场作用后第 3 天,磁场加 γ 射线组细胞开始出现典型的细胞凋亡形态。光镜下部分细胞体积明显变小,胞膜皱缩,胞核固缩,染色质浓染,有的细胞表现为核碎裂,这表明以上细胞坏死是继发于细胞凋亡的过程。流式细胞仪测试结果表明,HL-60 细胞经电磁场和 γ 射线联合作用后,DNA 直方图上 G_0/G_1 峰前出现了细胞凋亡时特有的低宽亚二倍体 DNA 波峰,即为程序化死亡细胞峰。从出现的百分率上看,磁场加 γ 射线组凋亡细胞为 33.36%,明显高于单独 γ 射线组和单独磁场组。实验结果表明,单独 γ 射线和单独磁场照射均能不同程度地杀伤 HL-60 细胞,但电磁场与 γ 射线联合作用杀伤 HL-60 细胞能力更强。我们认为,电磁场增加 γ 射线杀伤 HL-60 细胞是通过增加 γ 射线诱导 HL-60 细胞凋亡的发生。电磁

场增加 γ 射线诱导肿瘤细胞凋亡可能与电磁场对肿瘤细胞周期的影响有关^[8], 磁场作用后可诱导肿瘤细胞从静止期进入增殖期, 而增殖期肿瘤细胞对射线最为敏感, 从而达到增敏效果。

参 考 文 献

1 Halper M H. Nature, 1964, **202**(8):717—721
2 Fitzsimmons R J, Ryaby J T, Mohan S *et al*. Endocrinol, 1995, **136** (7):3100—3106
3 胡大为, 王群, 范志民. 中华物理医学杂志, 1998, **20**:(3):122—135
HU D W, WANG Q, FAN Z M. Chin J Phys Med. , 1998, **20**:(3):122—135
4 邹本荣, 姜艳芳, 胡大为等. 中华物理医学杂志, 1998, **20**(1):8—10
ZOU B R, JIANG Y F, HU D W *et al*. Chin J Phys Med, 1998, **20**(1):8—10
5 John J. J Lab Clin Med, 1994, **124**(6):761—763
6 Radford R I, Aldrige D R. Int J Radiat Biol, 1999, **75**:132—135
7 张卓立, 李俊峡. 中华物理医学与康复杂志, 2001, **23**(1):61—62
ZHANG Z L, LI J X. Chin J Phys Med Rehabil, 2001, **23**(1):61—62
8 刘晓秋, 赵文正, 赵阿津. 天津医科大学学报, 1998, **3** (4) :118—120
LIU X Q, ZHAO W Z, HAO A J. J Tianjin Med univ, 1998, **3** (4) :118—120

THE STUDY OF EFFECTS OF γ RAY COMBINED
WITH ELECTROMAGNETIC FIELD ON HL—60 CELLS

LIU Xiaoqiu ZHAO Wenzheng ZHAO Ajin

(Institute of Radiation Medicine Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300192)

ABSTRACT By using viable cell count , cell morphology examination and flow cytometry analysis , We studied the effects of γ ray combined with electromagnetic field on HL—60 cells. Cells were exposed to 4Gy γ irradiation from ¹³⁷Cs γ ray. The strength and frequency of the electromagnetic field were 10MT and 250Hz respectively. The combined effects of ¹³⁷Cs irradiation with exposure to the electromagnetic field showed a greater effect than a simple additive one. The results suggest that electromagnetic field can increase apoptosis induction of HL—60 cells by ionizing radiation.

KEYWORDS γ ray, Electromagnetic radiation, Apoptosis, HL—60 cell

CLC R811.5, Q64